Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Dirección General de Estudios de Posgrado
Facultad de Ingeniería Industrial
Unidad de Posgrado

Diseño de un algoritmo para la automatización del conteo de células del tejido sanguíneo mediante procesamiento digital de imágenes

TESIS

Para optar el Grado Académico de Doctor en Ingeniería Industrial

AUTOR

Rafael BUSTAMANTE ALVAREZ

ASESOR

Dr. Walter Esteban BARRUTIA FEIJOO

Lima, Perú

2019

Referencia bibliográfica

Bustamante, R. (2019). *Diseño de un algoritmo para la automatización del conteo de células del tejido sanguíneo mediante procesamiento digital de imágenes*. Tesis para optar grado de Doctor en Ingeniería Industrial. Unidad de Posgrado, Facultad de Ingeniería Industrial, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.

CÓDIGO ORCID DEL AUTOR:	0000-0003-3208-9356
CÓDIGO ORCID DEL ASESOR:	0000-0002-6184-2282
GRUPO DE INVESTIGACIÓN:	-
INSTITUCIÓN FINANCIADA:	-
PARCIAL O TOTAL:	-
UBICACIÓN GEOGRÁFICA DE LA INVESTIGACIÓN:	LIMA
AÑO O RANGO DE AÑOS DE LA INVESTIGACIÓN:	2016-2019
DNI:	09377230

UNIVERSIDAD NACIONAL
MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMERICA

UNIDAD DE POSGRADO

ACTA DE SUSTENTACIÓN Nº 11-UPG-FII-2019

SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE DOCTOR EN INGENIERÍA INDUSTRIAL

En la ciudad de Lima, del día veintitrés del mes de julio del dos mil diecinueve, siendo las dieciséis horas, en acto público se instaló el Jurado Examinador para la Sustentación de la Tesis titulada: **"DISEÑO DE UN ALGORITMO PARA LA AUTOMATIZACIÓN DEL CONTEO DE CÉLULAS DEL TEJIDO SANGUÍNEO MEDIANTE PROCESAMIENTO DIGITAL DE IMÁGENES",** para optar el Grado Académico de Doctor en Ingeniería Industrial.

Luego de la exposición y absueltas las preguntas del Jurado Examinador se procedió a la calificación individual y secreta, habiendo sido.....APROBADA..... con la calificación de.....DIECISEIS (BUENO).....

El Jurado recomienda que la Facultad acuerde el otorgamiento del Grado Académico de Doctor en Ingeniería Industrial, al **Mg. BUSTAMANTE ALVAREZ RAFAEL.**

En señal de conformidad, siendo las.....17h30..... horas se suscribe la presente acta en cuatro ejemplares, dándose por concluido el acto.

Dr. CEVALLOS AMPUERO, JUAN MANUEL
Presidente

Dr. WONG CABANILLAS, FRANCISCO JAVIER
Miembro

Dr. CHUNG PINZÁS, ALFONSO RAMÓN
Miembro

Dr. ARBILDO LÓPEZ, AURELIO
Miembro

Dr. BARRUTIA FEIJOO, WALTER ESTEBAN
Asesor

DEDICATORIA

Con cariño y gratitud a Dios, a mis padres Uriel y Luz, a mi esposa Rossina mis hijos Andrea y Gabriel, a mis Hermanas Ada y Lisbeth, quienes con su apoyo han Hecho posible alcanzar mis metas profesionales.

Rafael

AGRADECIMIENTOS

En un trabajo de investigación son necesarios variados los recursos a los que debemos acceder para lograr los resultados esperados. Comenzando por los conocimientos adquiridos, por las ideas precursoras del trabajo, pasando por la recopilación de información y los medios físicos que posibilitan la realización práctica y posterior documentación del trabajo por lo cual debo hacer el siguiente agradecimiento:

A Dios, quien me dio fuerzas para poder seguir adelante con la presente tesis.

A la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, mi ALMA MATER por haberme cobijado en sus aulas para seguir la noble carrera de Ingeniería Electrónica, luego la Maestría en Telecomunicaciones y el Doctorado en Ingeniería Industrial.

A mi asesor Dr. Walter Barrutia Feijoo, por su valiosa ayuda y a todas las personas que me apoyaron en la elaboración de la presente tesis.

INDICE

CAPITULO 1: INTRODUCCIÓN 1

1.1. Situación Problemática 3

1.2. Formulación del Problema 4

1.2.1. Problema principal 4

1.2.2. Problemas secundarios 4

1.3. Justificación de la Investigación 5

1.4. Objetivos de la Investigación 7

1.4.1. Objetivo General 7

1.4.2. Objetivos Específicos 7

CAPITULO 2: MARCO TEÓRICO 8

2.1. Marco Filosófico 8

2.1.1. Percepción de la realidad 9

2.1.2. Razonamiento 10

2.1.3. Finalidad 10

2.1.4. Orientación 10

2.1.5. Principio de verdad 11

2.1.6. Perspectiva del Investigador 11

2.1.7. Causalidad 12

2.1.8. Axiología 12

2.1.9. Punto fuerte 13

2.1.10. Validez 13

2.2. Antecedentes del Problema 13

2.3. Bases Teóricas 19

2.3.1. La Imagen Digital 20

2.3.2. Sistema de Procesamiento Digital de Imágenes 21

2.3.2.1. Adquisición de imágenes 22

2.3.2.2. Procesamiento 25

2.3.2.3. Almacenamiento 26

2.3.2.4. Comunicación 28

2.3.2.5. Presentación 28

2.3.3. Procesamiento digital de imágenes (PDI) 29

2.3.4. Procedimiento para el conteo células sanguíneas mediante 32

el procesamiento digital de imágenes 32

2.3.5. Obtención de las muestras de tejido sanguíneo. 33

2.4. Procesamiento digital de las imágenes de las células 36

2.4.1. Captación de Imágenes 38

2.4.1.1. Resolución 38

2.4.1.2. Pixel 39

2.4.1.3. Megapíxel 39

2.4.1.4. Microscopía 39

2.4.1.5. Nivel de Aumento en el Microscopio 39

2.4.1.6. Ocular 40

2.4.1.7. Objetivos (Lentes) 40

2.4.1.8. Nivel de Iluminación 40

2.4.1.9. Hemograma 41

2.4.2. Procesamiento de nivel bajo 41

2.4.2.1. Modelo de Color 42

2.4.2.2. Modelo RGB 42

2.4.2.3. Conversión de nivel gris 44

2.4.2.4. Modelo HSV 45

2.4.2.5. Histograma 49

2.4.2.6. Ecualización de un histograma.....51

2.4.2.7. Filtrado digital de imágenes.....53

2.4.2.8. Filtros lineales 54

2.4.2.9. Filtro promedio 54

2.4.2.10. Filtros no lineales 55

2.4.2.11. Filtro Mediana 56

2.4.3. Procesamiento de nivel medio 57

2.4.3.1. Segmentación 58

2.4.3.2. Umbralización 58

2.4.3.3. Método de Otsu. 59

2.4.3.4. Segmentación por Histograma 61

2.4.3.5. Transformada Watershed 63

2.4.3.6. Detección de bordes 66

2.4.3.7. Prewitt: 67

2.4.3.8. Canny 68

2.4.3.9. Descriptores.....69

2.4.3.10. Área del objeto de una imagen 70

2.4.3.11. Perímetro de un objeto de una imagen 70

2.4.3.12. Compacidad.....70

2.4.3.13. Número de Euler 71

2.4.3.14. Asimetría.....71

2.4.3.15. Curtosis.....72

2.4.3.16. Entropía.....73

2.4.3.17. Media.....74

2.4.3.18. Desviación Estándar 74

2.4.3.19. Operaciones morfológicas de la imagen.....75

2.4.3.20. Definiciones básicas.....75

2.4.3.21. Operaciones con imágenes binarias 76

2.4.3.22. Dilatación 76

2.4.3.23. Diferencia 76

2.4.3.24. Erosión 76

2.4.3.25. Apertura 76

2.4.3.26. Cierre 77

2.4.4. Procesamiento de nivel alto 77

2.4.5. Redes Neuronales Artificiales 77

2.4.6. Modelo de Red Backpropagation (Regla delta generalizada) 83

2.4.7. Transformada de Hough 89

2.4.7.1. Detección de líneas rectas 89

2.4.7.2. Detección de círculos 95

CAPITULO 3: METODOLOGÍA 98

3.1. Hipótesis de la investigación 98

3.1.1. Hipótesis general 98

3.1.2. Hipótesis específicas 99

3.2. Tipo y diseño de la investigación 99

3.3. Identificación de variables 101

3.4. Operacionalización de variables 102

3.5. Unidad de investigación 103

3.6. Población 103

3.7. Muestras 103

3.8. Instrumentos de recolección de datos 103

3.9. Instrumentos de análisis de datos 104

3.10. Matriz de Consistencia 104

CAPITULO 4: DISEÑO DEL ALGORITMO 106

4.1. Conteo de glóbulos rojos 106

4.2. Conteo de glóbulos rojos basado en áreas 114
4.2.1. Captación de la imagen 115
4.2.2. Mejora de la Imagen.....117
4.2.3. Umbralización de la imagen 117
4.2.4. Negativo y relleno de agujeros.....119
4.2.5. Remoción y relleno de agujeros, Dilatación, Erosión y relleno de agujeros 119
4.2.6. El conteo de células por estimación de áreas 120
4.3. Método de conteo mediante la Transformada de Watershed.....123
4.3.1. Contraste de la imagen de glóbulos rojos.....123
4.3.2. Complemento del contraste.....126
4.3.3. Segmentación por Umbralización 126
4.3.4. Determinación de regiones de máxima brillantes 127
4.3.5. Determinación de mínimos niveles de grises 128
4.3.6. Segmentación mediante la Transformada de Watershed 129
4.3.7. Conteo de células.....130
4.4. Método de conteo mediante la Transformada de Hough 132
4.4.1. Mejora de la imagen por contraste 133
4.4.2. Segmentación por umbralización.....134
4.4.3. Detección de bordes 135
4.4.4. Detección de centros y conteo de células 135
4.5. Comparación de métodos para el conteo de glóbulos rojos.....138
4.6. Conteo de glóbulos blancos 147
4.7. Procesamiento digital de imágenes para el conteo diferenciado de glóbulos blancos 149
4.7.1. Captación 149
4.7.2. Conversión a niveles de gris 150
4.7.3. Segmentación.....151

4.7.4. Erosión y dilatación 151
4.7.5. Detección de bordes 152
4.7.6. Recorte de las imágenes de cada leucocito 153
4.7.7. Segmentación de la Célula por Histograma 154
4.7.8. Segmentación del núcleo por Histograma 155
4.7.9. Segmentación del Citoplasma por Histograma 156
4.7.10. Detección de un Eusinófilo mediante el modelo 156
de color HSV 156
4.7.11. Detección de un Neutrófilo mediante la Transformada de Hough 157
4.8. Descriptores para la identificación de los leucocitos 158
4.8.1. Área de la célula 158
4.8.2. Área del núcleo 159
4.8.3. Asimetría 159
4.8.4. Compacidad 159
4.8.5. Desviación estándar 159
4.8.6. Entropía de la célula 160
4.8.7. Número de Euler 160
4.8.8. Curtosis 160
4.8.9. Media de la célula 160
4.8.10. Porcentaje del área del núcleo 160
4.8.11. Perímetro 161
4.8.12. Media del citoplasma 161
4.9. Métodos para el conteo diferenciado de glóbulos blancos 161
4.9.1. Método de conteo diferenciado mediante redes neuronales artificiales 161
4.9.1.1. Procedimiento de la aplicación del método de conteo diferenciado mediante redes neuronales artificiales 165

4.9.2. El método de conteo diferenciado desarrollado mediante método de Máximos y Mínimos 175

4.9.2.1. Ventajas del algoritmo basado en el método del Máximos y Mínimos (Algoritmo Diseñado) respecto al algoritmo basado en Redes Neuronales Artificiales 185

4.10. Algoritmo de procesamiento digital de imágenes para el conteo de células sanguíneas propuesto. 186

4.10.1. Desempeño del Algoritmo de procesamiento digital de imágenes propuesto. 190

CAPITULO 5: RESULTADOS Y DISCUSIÓN 196

5.1. Algoritmo de conteo de células sanguíneas 196

5.1.1. Algoritmo para el conteo de glóbulos rojos de la Cámara de Neubauer 197

5.1.2. Algoritmo para el conteo diferenciado de glóbulos blancos 203

5.1.3. Algoritmo diseñado de Conteo de Células Sanguíneas 209

5.1.4. Análisis del tiempo de conteo diferenciado de glóbulos blancos entre el proceso de conteo mediante el PDI basado en el algoritmo de RNA y el proceso de conteo manual. 215

5.1.5. Análisis del tiempo de conteo diferenciado de glóbulos blancos entre el algoritmo de RNA y el algoritmo diseñado, propuesto en la presente investigación, ambos aplicados al PDI. 216

5.1.6. Análisis del tiempo de conteo diferenciado de glóbulos blancos entre el algoritmo diseñado, propuesto en la presente investigación y el proceso manual de conteo. 217

5.1.7. Análisis de la tasa de error de conteo de glóbulos rojos basado en el algoritmo diseñado de procesamiento digital de imágenes propuesto en la presente investigación. 218

5.1.8. Aspectos adicionales para el conteo de glóbulos rojos y conteo diferenciado de glóbulos blancos. 220

5.2. Pruebas de hipótesis 221

5.2.1. Prueba de la Hipótesis General 221

5.2.2. Prueba de Hipótesis Específica: Subacápite 3.1.2.1 228

5.2.3. Prueba de Hipótesis Específica: Subacápite 3.1.2.2. 232

5.2.4. Prueba de Hipótesis Específica: Subacápite 3.1.2.3. 237

5.2.5. Prueba de Hipótesis Específica: Subacápite 3.1.2.4. 242

CAPITULO 6: IMPACTOS 248

6.1. Conteo de glóbulos rojos o Eritrócitos.....248

6.2. Algoritmo Basado en la Estimación de Áreas 252

6.3. Algoritmo de aplicación de la Transformada de Watershed 252

6.4. Algoritmo de aplicación de la Transformada de Hough.....253

6.5. Conteo de glóbulos blancos o leucocitos.....254

6.6. Clasificación mediante el Método de Máximos y Mínimos.....256

6.7. Capacitación en la clasificación de glóbulos blancos 256

6.8. Microscopia virtual.....256

6.9. Aplicaciones para análisis citológicos 257

6.10. Impacto en el costo del servicio y la productividad. 257

CONCLUSIONES.....259

RECOMENDACIONES 262

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 263

ANEXO 1 268

ANEXO 2 289

ANEXO 3 293

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. ***Identificación de variables*** *101*
Cuadro 2. ***Operacionalización de variables*** *102*
Cuadro 3. ***Matriz de consistencia*** *105*
Cuadro 4. ***Determinación del error de conteo de glóbulos rojos mediante el Método Basado en Áreas*** *121*
Cuadro 5. ***Determinación del error de conteo de glóbulos rojos mediante el método basado en la Transformada de Watershed*** *131*
Cuadro 6. ***Determinación del error de conteo de glóbulos rojos mediante el método basado en la Transformada de Hough*** *137*
Cuadro 7. ***Comparación de los tres métodos para el conteo de glóbulos rojos por el promedio error de conteo.*** *138*
Cuadro 8 ***Tiempo promedio mediante el algoritmo diseñado para el conteo de glóbulos rojos y el conteo manual*** *147*
Cuadro 9. ***Descriptores del leucocito Basófilo.*** *162*
Cuadro 10. ***Descriptores del leucocito Eusinófilo.*** *163*
Cuadro 11. ***Descriptores del leucocito Linfocito.*** *163*
Cuadro 12. ***Descriptores del leucocito Monocito*** *163*
Cuadro 13. ***Descriptores del leucocito Neutrófilo*** *163*
Cuadro 14. ***Patrones de entrada de los 12 descriptores*** *164*
Cuadro 15. ***Patrones de salida de la red neuronal artificial*** *164*
Cuadro 16. ***Rango mínimo máximo de los descriptores de Basófilos*** *176*
Cuadro 17. ***Rango mínimo máximo de los descriptores Eusinófilos*** *176*
Cuadro 18. ***Rango mínimo máximo de los descriptores Linfocitos*** *176*
Cuadro 19. ***Rango mínimo máximo de los descriptores Monocitos*** *176*
Cuadro 20. ***Rango mínimo máximo de los descriptores Neutrófilos*** *176*
Cuadro 21. ***Análisis comparativo de los dos métodos desarrollados con respecto al tiempo de procesamiento y los falsos positivos*** *185*
Cuadro 22 : Características de desempeño *194*
Cuadro 23. ***Tiempo de conteo diferenciado de glóbulos blancos del algoritmo de RNA y el proceso manual de conteo*** *215*
Cuadro 24. ***Tiempo de Conteo del Algoritmo de RNA y el Algoritmo propuesto*** *217*
Cuadro 25. ***Tiempo de conteo del algoritmo diseñado y del proceso de conteo manual*** *218*
Cuadro 26. ***Tasa de error de conteo mediante el algoritmo diseñado, propuesto en presente investigación*** *219*

Cuadro 27. ***Parámetros de conteo de glóbulos rojos y conteo diferenciado de leucocitos*** *220*
Cuadro 28. ***Evaluación de la distribución normal de las muestras CM y AD*** *.....222*
Cuadro 29. ***Determinación de rangos de las muestras CM y AD*** *.....224*
Cuadro 30. ***Tabla de tiempo de conteo de 5 cuadriculas mediante el proceso de conteo manual y el conteo en algoritmo diseñado propuesto en la presente investigación-*** *.....226*
Cuadro 31. ***Costo del servicio de conteo de células sanguíneas*** *.....227*
Cuadro 32. ***Evaluación de la distribución normal de las muestras Algortmo_RNA y Método_manual*** *.....228*
Cuadro 33. ***Cuadro de tiempos de conteo diferenciado de glóbulos blancos mediante PDI basado en el algoritmo de RNA y el tiempo conteo del proceso manual de conteo.*** *.....232*
Cuadro 34. ***Evaluación de la distribución normal de las muestras Algoritmo_RNA y Algoritmo_diseñado*** *.....233*
Cuadro 35. ***Cuadro de tiempos del método de conteo manual de glóbulos blancos y el método Máximos y mínimos de Procesamiento digital de imágenes*** *.....237*
Cuadro 36. ***Evaluación de la distribución normal de las muestras Algoritmo diseñado y Método manual*** *.....238*
Cuadro 37. ***Cuadro de tiempos del método de conteo manual de glóbulos blancos y el Algoritmo Diseñado, propuesto en la presente investigación*** *.....241*
Cuadro 38. ***Evaluación de la distribución normal de las muestras*** *.....243*
Cuadro 39. ***Determinación de los rangos para la Prueba de Hipótesis de Wilcoxon.*** *.....244*
Cuadro 40. Tabla del error entre el conteo manual y el conteo mediante el PDI basado en el algoritmo diseñado, propuesto en la presente investigación *.....246*
Cuadro 41. ***Comparación de equipos*** *.....258*
Cuadro 42. ***Entradas y salidas del programa que implementa el conteo de GR basado en el algoritmo diseñado.*** *.....279*
Cuadro 43. ***Entradas y salidas del programa que implementa el conteo de GB basado en el algoritmo Redes Neuronales Artificiales*** *.....285*
Cuadro 44. ***Entradas y salidas del programa que implementa el conteo de GB basado en el algoritmo y Máximos y Mínimos*** *.....287*
Cuadro 45. ***Determinación del costo del software elaborado*** *.....300*
Cuadro 46. ***Determinación de la implementación el Método PDI para el conteo de células*** *.....301*

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. ***Imagen digital.*** *20*
Figura 2. ***Matriz que representa la imagen.*** *21*
Figura 3. ***Diagrama de bloques de un sistema de procesamiento digital de imágenes***. *22*
Figura 4. ***Dispositivos de entrada.*** *23*
Figura 5. ***Modelo de color RGB.*** *23*
Figura 6. ***Imágenes de baja resolución izq. y alta resolución der.*** *24*
Figura 7. ***Unidad grafica de procesamiento ASUS GTX.*** *25*
Figura 8. ***Memoria DDR4 VERGERNCE***. *Fuente.http://www.corsair.com/es-es/vengeance-lpx-16gb-4x4gb-ddr4-dram-2666mhz-c15-memory-kit-black-cmk16gx4m4a2666c.* *27*
Figura 9. ***Disco duro interno KINGSTON 240 GB.*** *27*
Figura 10. ***Discos ópticos FUJIFILM de 1 TB.*** *Fuente:http://www.itespresso.es/fujifilm-comercializara-los-discos-opticos-de-1tb-en-2015-55753.html.* *27*
Figura 11. ***Conectores USB.*** *28*
Figura 12. ***Dispositivos de salida.*** *29*
Figura 13. ***Detección de bordes.*** *31*
Figura 14. ***Imágenes: derecha I. original e izquierda I. segmentada.*** *Fuente. Elaboración propia.* *31*
Figura 15. ***Análisis y clasificación.*** *32*
Figura 16. ***Limpieza con alcohol de la zona de extracción de sangre***. *33*
Figura 17. ***Extracción de una muestra de sangre.*** *33*
Figura 18. ***Retiro de la aguja y torniquete luego se vierte la muestra lentamente***. *Fuente. Manual de procedimientos de laboratorio en técnicas básicas de hematología del instituto nacional de salud - Ministerio de Salud.* *34*
Figura 19. ***Plaquetas y glóbulos rojos.*** *36*
Figura 20. ***Glóbulos blancos.*** *36*
Figura 21. ***Procesamiento digital de imágenes para el conteo e identificación de células sanguíneas.*** *37*
Figura 22. ***Sistema de Procesamiento digital de imágenes para el conteo e identificación de células sanguíneas.*** *37*
Figura 23. ***Cámara digital y microscopio***. *Fuente.http://cristinita2.files.wordpress.com/2009/01/camara-digital-casio-ex-z1200.jpg http://deconceptos.com/wp-content/uploads/2009/02/concepto-de-microscopio.jpg* *38*

Figura 24. ***Componentes normalizados RGB*** *Fuente.http://www.gphysics.net/pages/druyd-content.php?type=content&id_course=1&id_title=12&id_storyboard=352&id_language=2&header=no.* 43
Figura 25. ***Modelo de colores RGB.***.....44
Figura 26. ***Cambio de colores a niveles de gris*** *Fuente.http://www.viajesgenesis.travel/1/index.php?option=com_content&view=article&id=197:caribe&catid=13&Itemid=140.*.....45
Figura 27. ***Componentes de HSV.*** 46
Figura 28. ***Modelo HSV*** 46
Figura 29 Coordenadas cilíndricas *Fuente:https://es.wikipedia.org/wiki/Coordenadas_cil%C3%ADndricas#/media/File:Cylindrical_with_grid.svg* 47
Figura 30. ***Saturación en HSV.*** 47
Figura 31. ***Matiz, saturación y valor.***.....48
Figura 32. ***Histograma de la imagen superior.*** 50
Figura 33. ***Ecualización de la imagen superior.*** 51
Figura 34. ***Proceso de filtrado.*** 53
Figura 35. ***Las imágenes del extremo izquierdo con efecto de lluvia ("ruido") y las imágenes centrales y del lado derecho luego del filtrado***.....57
Figura 36. ***Binarización (Segmentación) por el Método Otsu T=0.5961, imagen de parte inferior, luego de negar la imagen superior derecha.***.....61
Figura 37. ***Imagen de la parte inferior segmentada.***.....62
Figura 38. ***Watershed.*** 65
Figura 39. ***Detección de bordes con máscara de Prewitt.***.....69
Figura 40. ***Detección de bordes con máscara de Canny pero con presencia de falsos bordes.***.....69
Figura 41. ***Elementos de una red neuronal artificial.***.....79
Figura 42. ***Modelo de Backpropagation.*** 84
Figura 43. ***Red Perceptrón.*** 85
Figura 44. ***Representación de una recta.*** 90
Figura 45. ***Intersección de dos rectas.*** 90
Figura 46. ***Espacio paramétrico.*** 92
Figura 47. ***Coordenadas polares.***.....92
Figura 48. ***Plano de la transformada de Hough.*** 93
Figura 49 ***.Detección de rectas.*** 94
Figura 50. ***Representación de dos rectas en el plano de la Transformada de Hough mediante dos puntos.***.....94

Figura 51. ***Detección de círculos.*** 96
Figura 52. ***Círculos detectados con centros indicados.*** 96
Figura 53. ***Círculos detectados en el espacio paramétrico.*** 97
Figura 54. ***Cámara de Neubauer.*** 107
Figura 55. ***Cuadriculas para analizar.*** 107
Figura 56. ***Imagen captada.*** *Fuente. Elaboración propia.* 108
Figura 57. ***Líneas horizontales detectadas.*** 109
Figura 58. ***Líneas horizontales unidas.*** 110
Figura 59. ***Líneas verticales detectadas.*** 110
Figura 60. ***Líneas verticales unidas.*** 111
Figura 61. ***Suma de Imágenes A y B.*** 112
Figura 62. ***Imagen C delimitada.*** 112
Figura 63. ***Imágenes de las cuadriculas de interés recortado.*** 113
Figura 64. ***Procesamiento digital imágenes de glóbulos rojos.*** 115
Figura 65. ***Imagen captada en niveles de grises.*** 116
Figura 66. ***Imagen ecualizada.*** 117
Figura 67. ***Imagen umbralizada.*** 118
Figura 68. ***Imagen en negativo.*** 119
Figura 69. ***Imagen3 luego de remoción- relleno-dilatación-erosión y relleno.*** 120
Figura 70. ***Diagrama de flujo del algoritmo del procedimiento del conteo de glóbulos rojos por estimación de áreas.*** 122
Figura 71. ***Función de Rayleight.*** 124
Figura 72. ***Imagen 1 y su histograma en la imagen 2.*** 125
Figura 73. ***Imagen2 y su histograma en la imagen 2, resultado de una ecualización.*** 125
Figura 74. ***Imagen complemento de la imagen 1 de la Figura 73.*** 126
Figura 75. ***Imagen umbralizada.*** 127
Figura 76. ***Imagen con los máximos niveles de brillo segmentado.*** 127
Figura 77. ***Proceso para obtener niveles de gris negro en Imagen 4.*** 128
Figura 78. ***Imagen preparada para la aplicación de la Transformada de Watershed.*** 129
Figura 79. ***Imagen segmentada mediante la Transformada de Watershed.*** 129
Figura 80. ***Imagen preparada para el conteo de glóbulos.*** 130
Figura 81. ***Diagrama de flujo del algoritmo para el conteo mediante la Transformada de Watershed.*** 132
Figura 82. ***Imagen mejorada mediante ecualización.*** 134
Figura 83. ***Imagen segmentada por umbralización.*** 134
Figura 84. ***Imagen con detección de bordes.*** 135
Figura 85. ***Detección de centros.*** 136

Figura 86. ***Diagrama de flujo del algoritmo del procedimiento de conteo de glóbulos rojos mediante la Transformada Hough.*** *137*
Figura 87. ***Algoritmo de conteo de glóbulos rojos mediante el Método de Conteo Basado en Áreas, el código fuente se presenta en el Código de programa 31 del Anexo 1 y en el Cuadro 43 del mismo anexo, sus entradas y salidas.*** *139*
Figura 88 ***La entrada presenta la imagen de la muestra de glóbulos rojos en la cámara de Neubauer presentada en cuadriculas y luego la salida muestra la imagen del resultado del conteo.*** *145*
Figura 89. ***Preparación de la muestra, para el conteo de glóbulos blancos.*** *148*
Figura 90. ***Imagen captada de glóbulos blancos.*** *150*
Figura 91. ***Imagen captada en niveles de grises.*** *150*
Figura 92. ***Imagen segmentada de la imagen captada.*** *151*
*Figura 93 .****Imagen segmentada luego de la dilatación y erosión.*** *152*
Figura 94. ***Imagen con detección de bordes.*** *152*
Figura 95. ***Imágenes de los leucocitos recortadas de la imagen captada.*** *153*
Figura 96. ***Histograma de la imagen del leucocito 2*** *154*
Figura 97. ***Imagen segmentada del leucocito 2.*** *155*
Figura 98. ***Imagen segmentada del núcleo del leucocito 2.*** *155*
Figura 99. ***Imagen segmentada del citoplasma del leucocito 2.*** *156*
Figura 100. ***Imagen del leucocito 2 en colores HSV.*** *157*
Figura 101. ***Imagen del núcleo de leucocito2 con detección de lóbulos*** *158*
Figura 102. ***Fase de entrenamiento de la Red Neuronal artificial.*** *162*
Figura 103. ***Fase de reconocimiento de la Red Neuronal Artificial*** *165*
Figura 104. ***Algoritmo del procedimiento de conteo de glóbulos blancos mediante Redes Neuronales Artificiales, el código fuente se presenta en el Código de programa 34 del Anexo 1 y en el Cuadro 44 del mismo anexo, sus entradas y salidas.*** ..*166*
Figura 105. ***Descriptores de las células de la imagen para ser identificadas*** *169*
Figura 106. ***Identificadores de los patrones de referencia de cada tipo de células, que son ingresadas a la RNA.*** *170*
Figura 107. ***Esquema de Red neuronal artificial implementada para el conteo diferenciado de leucocitos, basada en la herramienta nntraintools de Matlab.*** *173*
Figura 108. ***Impresión del conteo diferenciado mediante Redes neuronales Artificiales en lado derecho, y en lado izquierdo la imagen de entrada.*** *174*
Figura 109. ***Esquema del método de Máximo y Mínimos.*** *176*
Figura 110. ***Algoritmo del procedimiento de conteo diferenciado de glóbulos blancos mediante el método de Máximos y Mínimos, el código fuente se presenta en el***

Código de programa 35 del Anexo 1 y en el Cuadro 45 del mismo anexo, sus entradas y salidas. *177*

Figura 111. ***Descriptores de cada una de las células de la imagen de la muestra para la determinación de los máximos y mínimos de cada una de ellas.*** *180*

Figura 112. ***Impresión en pantalla del resultado de conteo diferenciado de glóbulos blancos por el método de Máximos y Mínimos, en lado derecho y en lado izquierdo la entrada.*** *184*

Figura 113. ***Algoritmo diseñado propuesto en la presente investigación.*** *187*

Figura 114. ***Entradas y salidas del algoritmo de conteo de glóbulos rojos y blancos respectivamente.*** *189*

Figura 115. ***Algoritmo de conteo de glóbulos rojos mediante el Método de Conteo Basado en Áreas, el código fuente se presenta en el Código de programa 31 del Anexo 1 y en el Cuadro 43 del mismo anexo, sus entradas y salidas.*** *198*

Figura 116. ***La entrada presenta la imagen de la muestra de glóbulos rojos en la cámara de Neubauer presentada en cuadriculas y luego la salida muestra la imagen del resultado del conteo.*** *198*

Figura 117. ***Interfaz gráfica del programa para el conteo de glóbulos rojos inicial.*** *199*

Figura 118. ***Interfaz donde se presenta la imagen de entrada para el algoritmo de conteo de glóbulos rojos*** *202*

Figura 119. ***Interfaz gráfica de la salida del programa de conteo de glóbulos rojos.*** *203*

Figura 120. ***Algoritmo de conteo diferenciado leucocitos mediante el método de Máximos y Mínimos, el código fuente se presenta en el Código de programa 35 del Anexo 1 y en el Cuadro 45 del mismo anexo, sus entradas y salidas.*** *204*

Figura 121. ***Impresión en pantalla del resultado de conteo diferenciado de glóbulos blancos por el método de Máximos y Mínimos, en lado derecho y en lado izquierdo la entrada.*** *205*

Figura 122. ***Interfaz gráfica del programa para el conteo de glóbulos blancos inicial.*** ... *205*

Figura 123. ***Interfaz donde se presenta la imagen de entrada para el algoritmo de conteo de glóbulos blancos*** *208*

Figura 124. ***Interfaz gráfica de la salida del programa de conteo de glóbulos rojos.*** *209*

Figura 125. ***Algoritmo diseñado propuesto en la presente investigación, el código fuente se presenta en el Código de programa 30 y 35 del Anexo 1 y en los Cuadros 43 y 45 del mismo anexo, sus entradas y salidas, integrado en la interfaz gráfica de la Figura 127 y su Código de programa 36.*** *210*

Figura 126. ***Entradas y salidas de los algoritmos implementados en el programa de integración mediante la interfaz gráfica de Matlab que se presenta en la Figura 127.*** *210*

Figura 127. ***Interfaz gráfica de la integración de los algoritmos de conteo de glóbulos rojos y conteo diferenciado de glóbulos blancos***.....211
Figura 128. ***Interfaz de conteo de glóbulos rojos, tratado en el acápite 5.1.1.*** 213
Figura 129. ***Interfaz de conteo diferenciado de glóbulos blancos, tratado en el acápite 5.1.2.*** 214
Figura 130. ***Distribución T-Student con la determinación de t_t=-2.25. Contraste unilateral.*** 231
Figura 131. ***Distribución T-Student con la determinación de t_t=-2.16.***.....236
Figura 132. ***Distribución T-Student con la determinación de t_t=-2.25.***.....240
Figura 133. ***Ubicación de Tc en la distribución.***.....245
Figura 134. ***Ilustración del proceso de conteo de glóbulos rojos mediante el Método Basado en Estimación de Áreas.***.....249
Figura 135. ***Cuadriculas de conteo de glóbulos rojos y el resultado del conteo***.....250
Figura 136. ***Aplicación de la Transformada de Watershed***.....253
Figura 137. ***Aplicación de la Transformada de Hough***. 254
Figura 138. ***Ilustración del proceso de conteo de glóbulos blancos mediante el Método Máximos y Mínimos.***.....255
Figura 139. ***Imagen captada de glóbulos blancos y el resultado del conteo***.....255
Figura 140: ***Tabla para el cálculo de U(α,n1,n2)*** 293
Figura 141. ***Tabla para la determinación de la región critica de F de Snedecor y decidir si la población posee varianza desconocida igual o diferente.*** 294
Figura 142: ***Tabla para determinar la región crítica mediante la prueba de Wilcoxon*** ...294
Figura 143. ***Tabla de t-student para la determinación de la región critica*** 295
Figura 144. ***Prueba de la Hipótesis General respecto al Subacápite 5.2.1 Prueba de Wilcoxon con el programa XLSTAT, donde Muestra 1 es AD (seg) y Muestra 2 es CM (seg). La Ho indica que las medianas son iguales y H1 que la mediana de las Muestra 1 es menor que la Mediana de la Muestra2. Se rechaza Ho. Las Muestras son valores en unidades de tiempo en segundos.*** 296
Figura 145. ***Prueba T de Student para la hipótesis del Acápite 5.2.2 para una población de varianza desconocida y diferente, Usando el programa XLSTAT. Se verifica la hipótesis propuesta. Donde Muestra 1 es Algoritmo RNA y Muestra 2 es Proceso Manual. Las Muestras son valores en unidades de tiempo en segundos.*** 297
Figura 146. ***Prueba t de Student para la hipótesis del Acápite 5.2.3 para una población de varianza desconocida y diferente, Usando el programa XLSTAT. Se verifica la hipótesis propuesta. Donde Muestra 1 es Algoritmo Diseñado y Muestra 2 es***

Algoritmo RNA. Las Muestras son valores en unidades de tiempo en segundos. *298*

Figura 147. ***Prueba T de Student para la hipótesis del Acápite 5.2.4 para una población de varianza desconocida y diferente, Usando el programa XLSTAT. Se verifica la hipótesis propuesta. Donde Muestra 1 es Algoritmo Diseñado y Muestra 2 es Método Manual. Las Muestras son valores en unidades de tiempo en segundos.*** *299*

Figura 148. ***Prueba de Wilcoxon para la hipótesis del acápite 5.2.4 usando el programa XLSTAT. Se verifica la hipótesis propuesta, al rechazar la ho. Las muestras están dadas en porcentaje de error.*** *300*

INDICE DE CÓDIGOS DE PROGRAMA

Código de programa 1. ***Configuración para la captación de la cámara.*** *140*
Código de programa 2. ***Conversión de una imagen a colores en niveles de grises.*** *140*
Código de programa 3. ***Detección de líneas horizontales en la imagen captada*** *141*
Código de programa 4. ***Detección de líneas verticales y obtención de las cuadriculas como en la Figura 62.*** *141*
Código de programa 5. ***Obtiene las imágenes de las cuadriculas de la imagen captada*** .. *142*
Código de programa 6. ***La imagen de la cuadrícula es aumentada 5 veces para un análisis más detallado.*** *142*
Código de programa 7. ***Ecualización de la imagen mediante la distribución de Rayleigh***. *143*
Código de programa 8. ***Segmentación por umbralización*** *143*
Código de programa 9. ***Convierte la imagen en negativo y relleno de agujeros.*** *143*
Código de programa 10. ***Remoción de objetos de la imagen, dilatación, erosión y relleno de agujeros*** *143*
Código de programa 11. ***Conteo de células por estimación de áreas*** *144*
Código de programa 12. ***Imprime el resultado del conteo de glóbulos rojos*** *145*
Código de programa 13. ***Captación de imágenes a color por la cámara de los leucocitos*** *167*
Código de programa 14. ***Determina los parámetros de cada una de los leucocitos de la imagen*** *171*
Código de programa 15. ***Configuración de los parámetros para la red neuronal artificial en la fase de entrenamiento.*** *172*
Código de programa 16. ***Ejecución de la fase de reconocimiento***. *173*
Código de programa 17. ***Permite la impresión del resultado del conteo de leucocitos en pantalla.*** *174*
Código de programa 18. ***Configuración de la cámara para la captación de la imagen por la cámara.*** *178*
Código de programa 19. ***Identifica un leucocito cuando hay un empate.*** *180*
Código de programa 20. ***Impresión de los resultados del conteo de leucocitos como salida del algoritmo***. *184*
Código de programa 21. ***Botón de Encender cámara y el código respectivo para la configuración de la captación de imágenes de la cámara.*** *200*
Código de programa 22. ***Botón de Capturar imagen y el código respectivo para mostrar la imagen en la interfaz gráfica.*** *200*
Código de programa 23. ***Botón de Contar glóbulos rojos y el código respectivo para mostrar el resultado del conteo***. *201*

Código de programa 24. ***Botón de Encender cámara y el código respectivo para la configuración de la captación de imágenes de la cámara.*** 206
Código de programa 25. ***Botón de Capturar imagen y el código respectivo para mostrar la imagen en la interfaz gráfica.*** 206
Código de programa 26. ***Botón de Contar glóbulos blancos y el código respectivo para mostrar el resultado del conteo***. 207
Código de programa 27. ***Código de botón para abrir interfaz de Conteo de glóbulos rojos.*** 212
Código de programa 28. ***Código de botón para abrir interfaz de Conteo diferenciado de glóbulos blancos.***.....212
Código de programa 29. ***Código de botón para abrir interfaz de Conteo diferenciado de glóbulos blancos.***.....212
Código de programa 30. ***Obtención de las imágenes de cuadrículas de la imagen captada por la cámara***.....268
Código de programa 31. ***Programa que realiza el conteo de GR basado en estimación de áreas*** 269
Código de programa 32. ***Programa que realiza el conteo de GR basado en la Transformada de Watershed***.....270
Código de programa 33. ***Programa que realiza el conteo de GR basado en la Transformada de Hough***.....271
Código de programa 34. ***Programa que realiza el conteo de GB basado en Redes Neuronales Artificiales*** 272
Código de programa 35. ***Programa que realiza el conteo de GB basado en Redes Neuronales Artificiales*** 273
Código de programa 36. ***Programa que implementa la interfaz de conteo de GR y GB***...274
Código de programa 37. ***Programa que implementa la interfaz de conteo de GR y GB***...276
Código de programa 38. ***Programa que implementa la interfaz de conteo de GR***.....278
Código de programa 39. ***Programa que implementa la demostración de la hipótesis en el que el tiempo de conteo de GB basado en el algoritmo de RNA es menor que el realizado con el método manual.***.....290
Código de programa 40. ***Programa que implementa la demostración de la hipótesis en el que el tiempo de conteo de GB basado en el Algoritmo diseñado es menor que el realizado con el algoritmo basado en RNA.***.....291
Código de programa 41. ***Programa que implementa la demostración de la hipótesis en el que el tiempo de conteo de GB basado en el Algoritmo Diseñado basado en el método de Máximos y Mínimos es menor que el realizado con el método manual.***.....292

RESUMEN

El presente trabajo de Tesis, desarrolla el diseño de un algoritmo para el conteo de células sanguíneas, específicamente el conteo glóbulos rojos y conteo diferenciado de glóbulos blancos, mediante el Procesamiento Digital de Imágenes; basado en dos algoritmos propuestos para cada caso respectivamente. Esto, permite automatizar el conteo a través del empleo de una computadora en un tiempo más breve que el empleado por un especialista. Para realizar el proceso mencionado, la imagen es captada por una cámara instalada en un microscopio y luego transmitida a la computadora para su análisis y conteo de las células sanguíneas mediante el algoritmo desarrollado.

PALABRAS CLAVES

Neubauer, Aumento, resolución, muestra, reactivo, segmentación, eritrocito, leucocito, Basófilo, Eusinófilo, Linfocito, Monocito, Neutrófilo, binarización, filtrado, Rayleight, Canny, Watershed, Hough, histograma, RGB, HSV, descriptores, media, curtosis, entropía, compacidad, Euler, perímetro, área, Backpropagation, gradiente, RNA, T-Student.

ABSTRAC

The present work of Thesis, deals with the design of an algorithm for the counting of blood cells, specifically the count red blood cells, differentiated with the counting of white cells, through the Digital Image Processing; Based on two procedures proposed for each case respectively. This procedure allows automating the manual count by making use of a computer in a shorter time than the one employed by a specialist. To perform the above process, the image is captured by a camera installed in a microscope and then transmitted to the computer for analysis and counting of blood cells using the developed algorithm.

CAPITULO 1: INTRODUCCIÓN

El advenimiento de nuevas tecnologías del Procesamiento Digital de imágenes, ha hecho posibles nuevos campos de desarrollos tecnológicos como la Visión por Computadora, en el cual un programa que gobierna la computadora sustituye la visión humana para tareas específicas de observación. Este es el caso de la investigación desarrollada en la presente Tesis, donde la tarea específica está referida al conteo de células sanguíneas, específicamente glóbulos rojos y glóbulos blancos, en un tiempo más breve que el realizado por un especialista de laboratorio. De esta manera se automatiza un proceso manual para ahorrar tiempo y evitar la fatiga, de una tarea repetitiva. Esto, en beneficio del servicio de análisis de sangre en los centros de salud y muy útil para la investigación y capacitación, en lo referente a identificación y técnicas conteo de células sanguíneas.

Para el conteo se células sanguíneas se ha desarrollado un algoritmo que integra dos procedimientos. El primero, para el conteo de glóbulos rojos mediante el Método Basado en la Estimación de Áreas. El segundo, para el conteo diferenciado de glóbulos blancos por medio del Método Máximos y Mínimos, el conteo diferenciado se refiere a que el procedimiento identifica, clasifica y cuenta según el tipo de glóbulo blanco o leucocito (Basófilos, Eusinófilos, Linfocitos, Monocitos y Neutrófilos).

Con la finalidad de implementar el procedimiento de conteo de glóbulos rojos se evaluó los siguientes métodos: el Método Basado en la Estimación de Áreas, Método Basado en la Transformada de Watershed y el Método Basado en la Transformada de Hough. Para implementar el procedimiento de conteo de glóbulos blancos se realizó la evaluación de los siguientes métodos: Método de Máximos y Mínimos, luego el Método Basado en la Redes Neuronales Artificiales tipo Backpropagation.

Finalmente, se procedió al análisis de los resultados del conteo con el Algoritmo desarrollado basado en el Procesamiento Digital de Imágenes y el método manual efectuado por un especialista. Luego, se realizaron las pruebas de hipótesis, demostrándose que en general, con el método basado en el Procesamiento Digital de Imágenes el conteo se realiza en menor tiempo que con el método manual y para el caso del conteo de glóbulos rojos con un error relativo menor al 5%.

1.1. Situación Problemática

El problema se sitúa en el servicio de laboratorios clínicos de los centros de atención de salud estatales y privados del país, donde se realizan los análisis de tejidos sanguíneos, los cuales consisten en el conteo de células usando un microscopio y los reactivos correspondientes.

La característica del problema es que la tarea de realizar el conteo de células sanguíneas conlleva un tiempo prolongado en obtener el resultado del análisis de tejido sanguíneo (MINSA, 2013). El conteo se realiza en forma manual y repetitiva. También, resulta ser costosa debido a los costos de los equipos que realizan el conteo celular en forma automática (ADVIA de SIEMENS, 500000 USD, Abott Cell Dyn 3700 CS, 31000 USD), y por la cantidad de personal que se emplea en los grandes centros hospitalarios, cuando se trata de analizar gran cantidad de muestras para el conteo de células sanguíneas.

El problema ocasionado por el conteo repetitivo de las células causa fatiga en el tecnólogo y como consecuencia la falta de precisión en el resultado del conteo (MINSA, 2013), consecuentemente, el uso de equipos de conteo celular costosos para resolver estos inconvenientes.

Asimismo, el impacto del problema se observa en la demora en dar el resultado del análisis. Esto afecta el tratamiento de un paciente en lugar de un oportuno diagnóstico y toma de decisiones del médico tratante, en casos de emergencia.

Otro aspecto del problema es el de capacitación del conteo de células sanguíneas, en el sentido que se emplea un docente para capacitar simultáneamente grupos de alumnos en el conteo de células sanguíneas, tanto glóbulos rojos como glóbulos blancos específicamente en el conteo

diferenciado. Esta capacitación puede mejorarse si se emplea un software que permita indicar a los estudiantes el conteo de células sanguíneas y la identificación de estas.

Las muestras de sangre para el conteo de sangre normalmente son desechadas una vez efectuado el conteo de células. En su lugar una imagen de la muestra puede ser almacenada para el análisis de la historia clínica de un paciente y posteriormente ser analizada por varios expertos o para fines académicos.

1.2. Formulación del Problema

1.2.1. Problema principal

¿Cómo influye el empleo del algoritmo diseñado de procesamiento digital de imágenes en el proceso de conteo de células sanguíneas con respecto al costo y tiempo en que se realiza el proceso manual del conteo de células?

1.2.2. Problemas secundarios

1.2.2.1 *¿Cuál es la relación con respecto al tiempo del conteo diferenciado de glóbulos blancos, entre el proceso de conteo mediante el procesamiento digital de imágenes basado en el algoritmo de Redes Neuronales Artificiales y el proceso manual de conteo células?*

1.2.2.2 *¿Cuál es la relación con respecto al tiempo del conteo diferenciado de glóbulos blancos, entre el algoritmo basado en las Redes Neuronales Artificiales y el algoritmo propuesto en la presente investigación, ambos aplicados al conteo diferenciado*

glóbulos blancos mediante el procesamiento digital de imágenes?

1.2.2.3 *¿Cuál es la relación con respecto al tiempo del conteo diferenciado de glóbulos blancos, entre conteo mediante procesamiento digital de imágenes basado en el algoritmo diseñado y el proceso manual de conteo diferenciado?*

1.2.2.4 *¿Cuál es la tasa de error del conteo de glóbulos rojos, usando el algoritmo de Estimación de Áreas aplicado en el procesamiento digital de imágenes respectivo?*

1.3. Justificación de la Investigación

En los centros de atención de salud, tales como el Hospital María Auxiliadora, el Hospital de Ayacucho, Huancavelica, y especialmente postas de salud en las zonas urbanas marginales donde se realizan permanentemente análisis de tejido sanguíneo, mediante el conteo y reconteo de células que conlleva a demoras en el diagnóstico. Un sistema que permita automatizar el proceso de conteo de células sanguíneas ahorrará tiempo y apoyará de manera más eficiente, en el diagnóstico del paciente y mejorar el servicio atención de salud en hospitales, clínicas y postas de salud.

La automatización del conteo de células sanguíneas permitirá ahorrar costos en la adquisición de equipos para este tipo de servicio, sobre todo en los centros de atención primarios de salud como son las postas de salud de los sectores urbano marginales y rurales. Finalmente, esta reducción de costos se reflejara en la reducción del costo del servicio que beneficiará directamente al usuario.

El diseño del algoritmo del conteo automático de células constituirá un avance en el campo de la biotecnología aplicando técnicas de procesamiento digital de imágenes específicamente, en el análisis por microscopio de células sanguíneas y la visión por computadora basada en la inteligencia artificial, para el apoyo al diagnóstico médico. Estos avances formarán parte de la mejora continua del servicio que brindan las instituciones de salud.

En la actualidad el procesamiento de imágenes aplicados al análisis de imágenes de seres microscópicos, constituye un área de investigación de gran interés en el campo de la Biotecnología y el campo del Procesamiento Digital de Imágenes; siguiendo la tendencia mundial de la automatización de procesos. No existe información bibliográfica en referencia a un sistema que permita el conteo de células sanguíneas como la propuesta en la presente investigación, la que constituye una contribución muy importante para la prestación de servicio de análisis de sangre.

El diseño del algoritmo propuesto contribuye en al ámbito de la capacitación a de los especialistas en el servicio de análisis de sangre específicamente en el conteo de células sanguíneas, y contribuye también en el campo de la Microscopia Virtual, donde una de sus aplicaciones es la capacitación en torno al uso del microscopio virtual con el añadido que contaría un módulo de visión por computadora, aspecto que los microscopios virtuales actuales no cuentan.

La presente investigación contribuye a los futuros desarrollos en el campo del procesamiento digital de imágenes de seres microscópicos, y el diagnóstico médico; mediante las técnicas propuestas.

1.4. Objetivos de la Investigación

1.4.1. Objetivo General

Diseñar un algoritmo para el procesamiento digital de imágenes que permita mejorar el proceso de conteo de células sanguíneas con respecto al costo y tiempo en que este se realiza con el proceso manual de conteo de células.

1.4.2. Objetivos Específicos

1.4.2.1 *Analizar si el tiempo de conteo diferenciado de glóbulos blancos mediante el método de Redes Neuronales Artificiales aplicado en el procesamiento digital de imágenes de imágenes de glóbulos blancos, es menor que el realizado por el proceso manual de conteo.*

1.4.2.2 *Analizar el resultado con respecto al tiempo de conteo diferenciado de glóbulos blancos, entre el algoritmo de Redes Neuronales Artificiales y el algoritmo propuesto en la presente investigación, ambos aplicados en el procesamiento digital de imágenes.*

1.4.2.3 *Analizar el conteo diferenciado de glóbulos blancos con respecto al tiempo entre el conteo mediante el procesamiento digital de imágenes basado en el algoritmo diseñado propuesto en la presente investigación y el proceso manual de conteo diferenciado.*

1.4.2.4 *Analizar la tasa de error de conteo de glóbulos rojos basado en el algoritmo de procesamiento digital de imágenes propuesto en esta investigación.*

CAPITULO 2: MARCO TEÓRICO

2.1. Marco Filosófico

El estudio de la generación y validación del conocimiento de la ciencia, son aspectos que comprende la Epistemología. La filosofía, la definición del conocimiento estudiado, su razonamiento y la comprobación de la verdad de su entendimiento (Sánchez H, et al., 2015).

Existen dos metodologías de investigación: cuantitativa y cualitativa. La investigación cuantitativa representa un conjunto de procesos de carácter secuencial y probatorio. Es secuencial porque parte de una idea, luego objetivos, preguntas, marco teórico, hipótesis, diseño de la investigación, recolección y análisis de datos, finalmente, concluir al final de un informe (Hernández, Fernández, & Baptista, 2014). Y es probatorio porque de las preguntas se establecen hipótesis, para establecer un diseño de la investigación y poder probarlas. La investigación cualitativa es también secuencial, solo que las preguntas e hipótesis pueden desarrollarse antes o después y durante la recolección y

análisis de datos. Ambas metodologías son diferentes aproximaciones al estudio de un fenómeno y las mejores formas de generar conocimientos e igualmente valiosos (Hernández et al, 2014).

La investigación no debe enmarcarse en un solo tipo de investigación o en una determinada clasificación sino, tomar características de diversos tipologías de investigación tal como sucede, por ejemplo, en el caso de la teoría de la triangulación (Jick, 1979), es decir considerar aspectos de la investigación cualitativa y cuantitativa. La presente investigación, tiene características de la metodología cuantitativa.

Complementando esta fundamentación epistemológica, se presenta a continuación las características epistemológicas de la Investigación (Icart, Fuentelsaz, & Pulpón, 2001):

2.1.1. Percepción de la realidad

En cuanto a la percepción de la realidad, la investigación es objetiva. Es decir, el investigador procesa la información tal cual es, sin ningún tipo de preferencia o sentimiento personal, no solo considerando los datos que confirmen la hipótesis; sino, que empleará toda información posible para realizar la investigación (Casanova & Antonio, 2015). Esto es, la información obtenida del tejido sanguíneo representada por las imágenes de las células, son procesadas digitalmente para obtener el resultado que podría confirmar la hipótesis. Además de todo el esfuerzo necesario para la adecuada obtención de la información.

2.1.2. Razonamiento

El carácter del razonamiento de la investigación es deductivo. Permite descubrir consecuencias desconocidas a partir de principios conocidos. En este sentido, la investigación propuesta, parte del conocimiento que se tiene del campo del Procesamiento Digital de Imágenes (algo conocido) y se infiere que si es posible aplicarlas al conteo de células sanguíneas (algo desconocido), incluyendo técnicas de redes neuronales artificiales (CONALEP, 2015).

2.1.3. Finalidad

La finalidad de una investigación consiste en formular nuevas teorías, modificar las existentes, desarrollar nuevos métodos que incrementan los conocimientos científicos (CITEC, 2010).

Mediante la investigación se logra la comprobación o confirmación de los resultados de los experimentos a ser desarrollados. En este sentido, la presente investigación tiene como finalidad proponer una metodología y trata de comprobar que aplicando los métodos de procesamiento digital de imágenes de las células sanguíneas, se puede realizar el conteo de estás de manera más eficiente y automatizar un proceso manual.

2.1.4. Orientación

La investigación tiene una orientación al estudio y resultado del proceso, ya que se trata de un nuevo campo de investigación; que implica una investigación sistemática y abierta, la cual puede ser replicada, por otros investigadores (COMIE, 2009).

Se busca la generalización de los resultados. Se verificará la hipótesis, descartándola o rechazándola. Esto, permite cuantificar la relevancia de los resultados de la investigación. Es decir, verificar si mediante la metodología propuesta se trata de reducir el tiempo de conteo de las células sanguíneas.

2.1.5. Principio de verdad

La investigación presenta una coincidencia entre lo que se plantea y la realidad. La solución presentada en esta investigación es particular, porque adecua el proceso, hacia el objeto de estudio, que son las imágenes de las células sanguíneas, es estable por tratarse de una solución basada en un sólido sustento matemático (Irisarri, 2012). El resultado se construye con el conocimiento previo del campo de estudio del Procesamiento Digital de Imágenes que el investigador posee.

2.1.6. Perspectiva del Investigador

Desde la perspectiva del investigador, este considera la existencia de una relación de independencia entre el investigador y el objeto de estudio (las imágenes); porque el investigador tiene una perspectiva desde afuera (Márquez, 2013). El investigador comprueba sus conocimientos aplicados a las imágenes de las células para realizar el conteo respectivo y observar el resultado de esta aplicación, para luego inferir si lo que propone como método de conteo es una solución para reducir los costos y tiempos del proceso.

2.1.7. Causalidad

El carácter de causalidad de la investigación consiste en encontrar la relación de causa efecto del experimento materia de estudio de la investigación (Llorens, 2011). Los antecedentes de esta investigación radican en la aplicación del procesamiento digital de imágenes como método para el conteo de objetos de una imagen y sus aplicaciones de visión por computadora.

2.1.8. Axiología

La Filosofía de la ciencia no es solo una actividad de tipo epistémico y metodológica, sino también, una actividad axiológica, enfocándose en el deber ser de la ciencia, estimulando nuevos valores, tanto epistémicos como en la praxis de la actividad científica (Cliffs, 1969).

Entre los valores están: la veracidad, la precisión, la objetividad y todos los valores en relación a objetivos de la ciencia. También se consideran, los valores que se encuentran incluidos en la gestión del riesgo cognitivo, en las pruebas y el rigor que corresponde en su ejecución. Los valores inherentes al investigador. Finalmente, los factores de valor de los productos de la ciencia como bienestar, salud, entre otras.

La aplicación del proyecto es genuina y es una investigación desarrollada con una metodología propia, cuyos resultados quedan plasmados en la tesis Doctoral que será publicada compartiendo el conocimiento con la sociedad para mejorar el servicio de salud a través de un diagnóstico más oportuno y eficiente.

2.1.9. Punto fuerte

En general la investigación es sólida en términos de la confiabilidad y validez. Con la confiabilidad, se refiere a la posibilidad de que la metodología propuesta sea empleada por otros investigadores, que conduciendo el mismo estudio lleguen a los mismos resultados, los que son altamente contrastables con la realidad y la solidez matemática (Ruiz & Ildefonso, 2012).

2.1.10. Validez

Esta característica consiste en verificar como influyen las variables independientes en las variables dependientes, a ello se denominada validez interna, y luego como el resultado de la investigación es generalizable, a la cual se le denomina validez externa (Ruiz & Ildefonso, 2012). La validez interna nos indicará que los resultados de la aplicación del método de procesamiento digital de imágenes son verificables y esperados. Y la validez externa que el método propuesto es replicable por otros investigadores.

2.2. Antecedentes del Problema

El procesamiento digital de imágenes aplicado a los análisis citológicos para ser automatizados, es un campo del conocimiento que se encuentra no muy explorado y cobrará más importancia en el futuro (Alayon, 2008). Esta automatización tiene fines de diagnóstico médico, disminuir la duración del análisis citológico, mejorar su precisión, disminuir costos de estos estudios en los centros de atención de salud, aplicaciones de la microscopia virtual y en la formación de especialistas.

Hay muchos trabajos de investigación en este campo, tales como:

En el estudio “Automatic Detection and Quantification of WBCs and RBCs Using Iterative Structured, Circle Detection Algorithm” (Alomari, Abdullah, Azma, & Omar, 2015), se propone un método de segmentación y conteo de células sanguíneas usando una estructura iterativa de detección de círculos. También, se expone una mejora al algoritmo llamado Circular Algorithm Called (RDC). Los resultados fueron obtener una precisión del conteo de 93% para White Blood Cells (WBC) y para Red Blood Cells (RBC) 97%.

En el estudio “An Efficient Technique for White Blood Cells Nuclei automatic Segmentation” (Sonar & Bhagat, 2015), el algoritmo propuesto reduce el ruido y mejora la precisión de la segmentación. El método consiste en el uso del contraste de la escala de grises de la imagen y su posterior filtrado para remover los falsos objetos de la imagen. Además, se han usado 365 imágenes para validar la propuesta y cada uno de los cinco tipos de glóbulos blancos puede ser evaluado para comparar el desempeño del algoritmo propuesto.

En la publicación “A Neuronal Network Based Approach to White Blood Cell” (Su, Cheng, & Wang, 2014). El estudio propone una segmentación basada en la conversión de la imagen a color bajo el modelo Red, Green and Blue (RGB) del leucocito en una imagen a color bajo el modelo Hue, Saturation and Intensity (HSI). Luego, evalúa diversas características de la célula y aplica las redes neuronales artificiales para la etapa de clasificación de los leucocitos, alcanzando un alto grado de precisión en la identificación de un leucocito, el resultado es solo para la clasificación de un leucocito.

En la investigación “White Blood Cells Identification and Classification” (Putzu & Di Ruberto, 2013), se propone un método para la identificación y clasificación de leucocitos con la finalidad de proporcionar un procedimiento como actividad médica de apoyo al

diagnóstico de la leucemia linfocítica aguda. El método permite clasificar los leucocitos que indican la enfermedad de leucemia aguda. Pero para clasificar el total de leucocitos se requiere un modelo de clasificación multiclase para la identificación respectiva.

En el artículo "Isolation and two-step classification of normal White blood cells in peripheral blood smears" (Ramesh, Dangott, Salama, & Tasdizen, 2012), se propone un esquema de clasificación de leucocitos basado en la información de color y morfología celular. Usando el método del algoritmo de aislamiento para segmentar el núcleo de los leucocitos segmentados y no segmentados y luego determina parámetros del núcleo a través de diferentes características que este posee. El sistema empleado en la evaluación de las células es el Ten Fold Cross Validation Technique (TFCVT) y se obtuvo como resultado una precisión del 93.9%.

En la publicación "White blood cell segmentation using morphological operator and scale-space analisys" (Borini, Minetto, & Leite, 2011), se presenta un nuevo método para la segmentación de glóbulos blancos, mediante la escala de espacio para regularizar el contorno de la imagen sin pérdidas. La operación anterior también filtrar ruido de la imagen. Se realiza un análisis cualitativo del núcleo de la célula para aumentar la precisión de la segmentación.

En la publicación "Segmentation of Natural Images by Texture and Boundary Compression" (Shankar & Sastry, 2010). El autor expone en su tesis un algoritmo que usa principalmente información de la textura y bordes de la imagen. Donde los bordes de la imagen es codificada usando una distribución Gaussiana. En conclusión el autor propone un método nuevo para la segmentación imágenes de paisajes de la naturaleza.

En la publicación “A machine learning approach to recovery of scene geometry” (Trinh, 2010), en conclusión el autor señala, que ha demostrado que una máquina puede aprender técnicas de visión por computadora para construir un sistema de visión por computadora a partir de la geometría de las escenas en 3D, de las imágenes que son capturadas. Las imágenes pueden ser de diferentes tipos de entradas básicamente de dos vistas en estéreo.

En el artículo titulado “Segmentación semiautomática de imágenes de resonancia magnética, basada en redes neuronales artificiales” (Drozdowicz, Bernasconi, Reyes, Saba, & Simón, 2005). Los autores exponen en esta investigación una solución para la segmentación de Imágenes de resonancia magnética nuclear mediante técnicas de redes neuronales artificiales enfatizando la buena calidad de la imagen al inicio del proceso**.** Los autores concluyen que el método propuesto es una buena alternativa pero se debe considerar la calidad de las imágenes previos al proceso.

En el estudio “Segmentación Markoviana Usando Modelos de Textura” (López & Altamirano, 2009), se concluye que ha propuesto un modelo de textura para segmentación Markoviana que integra la función de energía de segundo grado definidas a partir de campos de texturas.

La publicación titulada “Fundamentos de Hematología” (Ruiz G. , 2009), presenta el estado del arte del conocimiento de la Hematología Clínica. Explica acerca de los orígenes de las células que constituyen el tejido sanguíneo hasta el tratamiento de las diversas enfermedades que pueden presentarse en los seres humanos. Finalmente, como conclusión el autor del libro presenta un enfoque holístico de la hematología y que el especialista en hematología debe considerar su permanente. Sin embargo queda claro que el avance de la medicina moderna hace que el

especialista en hematología considera su permanente actualización, dado los avances constantes de este campo.

En la publicación titulada "Fundamentos de Medicina" (Velez, Rojas, & Restrepo, 2009), se realiza un estúdio las células hematoyéticas, la semiología de la sangre como presentación clínica de las enfermedades hematológicas y específicamente en el capítulo 3 trata sobre el hemograma como parte de la práctica clínica. En conclusión, el autor presenta una forma didáctica de explicar el proceso de conteo de las células sanguíneas.

En el artículo "Segmentation of Multiple, Partially Occluded Objects by Grouping, Merging, Assigning Part Detection Responses" (Wu, Nevatia, & Li, 2008), se describe un método basado en la segmentación múltiple de los objetos de una imagen procesada.

En la investigación "Segmentación Automática de Núcleos Solapados en Imágenes de Citologías" (Alayon, 2008), se expone una metodología para la segmentación de núcleos de células de una imagen citológica, basada en técnicas de umbralización. La conclusión de la autora es que la segmentación de núcleos solapados es una tarea muy complicada y que los métodos convencionales no funcionan para este caso.

En el artículo "Clasificación de leucocitos utilizando visión por computadora" (Ochoa M. , 2006), se propone emplear técnicas de visión por computadora para identificar y clasificar células sanguíneas, específicamente glóbulos blancos. El estudio consistió en identificar las células analizadas. Luego, verificar si eran del grupo de segmentadas o no segmentadas. El análisis realizado estuvo basado en la aplicación del Análisis de Componentes Principales (PCA) y complementado al uso de Redes Neuronales Artificiales (RNA), para la clasificación de las células. En conclusión, se obtuvo una precisión del 79.85%, para la clasificación

de células propuestas y solo se consideró Neutrófilos, Eusinófilos, Monocitos y Linfocitos.

En el artículo "Procesamiento de imágenes a color utilizando morfología matemática" (Wlliam, 2006), el autor señala que la morfología matemática es una herramienta para el análisis de imágenes cuando se trata de estudiar su topología y la estructura geométrica de los objetos presentes en ella. Como conclusión el autor señala, que el método propuesto permite operaciones morfológicas de la imagen en el campo RGB.

En el artículo "Aplicaciones industriales de la visión por computador" (Pajares, 2006), se presenta una visión panorámica de las aplicaciones del campo de Procesamiento Digital de Imágenes que da una idea de la gran cantidad de aplicaciones en este campo.

En la publicación "Transcriptor de Lenguaje de Señas a Texto Universidad de las Américas de Puebla" (Escalante, 2006), se expone acerca de un desarrollo de sistema que transcribe los símbolos del lenguaje de señas a palabras mediante el método del procesamiento digital de imágenes. En opinión del autor del proyecto de tesis doctoral, concluye que las redes neuronales artificiales aplicadas al reconocimiento de imágenes, es una herramienta valiosa como es el caso de reconocimiento de los símbolos de las señas para las personas con discapacidad auditiva.

En la publicación "Desarrollo de un Sistema de Análisis Automático de Imágenes de Extendido Sanguíneos" (Pinzon, 2004), se presenta un trabajo relacionado al análisis de células sanguíneas infectadas con parásitos; las que son procesadas mediante método el procesamiento digital de imágenes; usando sustancialmente la Transformada de Hugh. Como conclusión, el sistema ha demostrado ser una herramienta muy valiosa, en el estudio de compuestos antimaláricos,

tanto para una automatización total del proceso, como para un uso supervisado del proceso por parte de un experto, aliviando la carga de trabajo de este.

En el libro titulado "Computer Vision: Issues, Problems, Principles, and Paradigms" (Fischler & Firschein, 2014) , se expone la descripción y análisis de una imagen, como se descompone una imagen, la asignación de etiquetas y la extracción de características de una imagen.

2.3. Bases Teóricas

El procesamiento digital de imágenes está relacionado al desarrollo y evolución de las computadoras o sistemas embebidos (Mejía, 2005), es decir va relacionado con el desarrollo de las tecnologías de hardware. Esto debido a que demanda recursos computacionales para poder procesar la información para almacenar y procesar las imágenes (Gonzalez, 2009). Adicionalmente, está relacionado con el desarrollo de los lenguajes de computación y los sistemas operativos para el desarrollo de muchas aplicaciones.

Entre las aplicaciones desarrolladas se encuentra el procesamiento digital de imágenes médicas, satelitales, geográficas, astronómicas, biológicas, aplicaciones industriales, etc.

La imagen es el objeto de análisis del procesamiento digital de imágenes, en los diferentes campos de aplicación.

2.3.1. La Imagen Digital

Una imagen es definida como una función bidimensional, f(x,y), donde x, y son coordenadas espaciales (en el plano), y la amplitud de *f* a cualquier par de coordenadas *(x, y)* es llamada la intensidad o el nivel de gris de la imagen en un punto. Una imagen digital es una imagen en la que la amplitud de valores de *f* es finita y con cantidades discretas, a través de un proceso que frecuentemente se refiere como una digitalización. En una imagen digital sus elementos son llamados píxeles (González & Woods, 2008).

Existen dos tipos de imágenes digitales, las imágenes digitales vectoriales y las imágenes rasterizadas. Las imágenes vectoriales, son definidas por ecuaciones matemáticas, y cuya principal ventajas es que la imagen cuando es modificada de tamaño no varía en su resolución. Las imágenes rasterizadas son definidas por muestras o datos representadas en forma de matrices y cuya variación de tamaño afecta la resolución de la imagen (García, 2008).

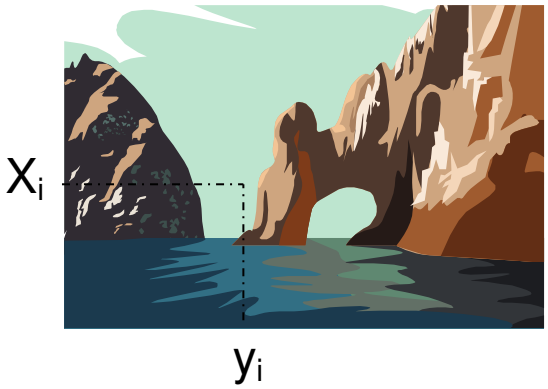


Figura 1. **Imagen digital.**
Fuente. García, 2008

$$I = \begin{bmatrix} I_{11} & I_{12} & . & I_{1n} \\ . & . & . & . \\ . & I_{xy} & . & . \\ I_{1m} & . & . & I_{mn} \end{bmatrix}$$

Figura 2. **Matriz que representa la imagen.**
Fuente. Elaboración propia.

Cada elemento de la matriz representa un píxel de la imagen, que en realidad es una muestra o dato.

2.3.2. Sistema de Procesamiento Digital de Imágenes

La imagen digital es el objeto del procesamiento digital de imágenes. Los sistemas de procesamiento digital de imágenes tienen por finalidad realizar las operaciones de procesamiento digital de imágenes, aplicando un conjunto de técnicas a las imágenes digitalizadas con el propósito de mejorarlas u obtener información (Gonzalez, 2009).

En la actualidad los sistemas de procesamiento digital de imágenes han evolucionado en la medida que los microprocesadores ha continuado mejorando sus capacidades de procesamiento.

La importancia de los sistemas procesamiento digital de imágenes se debe al papel que desempeña en las tecnologías de la información y comunicación. Actualmente es la base de una serie de aplicaciones que incluye diagnóstico médico, percepción remota, visión por computador, robótica, etc.

Los elementos de un sistema de procesamiento digital de imágenes (Gonzalez, 2009) son:

- Adquisición de imágenes.
- Almacenamiento.

- Procesamiento.
- Comunicación.
- Presentación.

Figura 3. **Diagrama de bloques de un sistema de procesamiento digital de imágenes**.
Fuente. Elaboración propia.

A continuación se describen cada uno de estos elementos

2.3.2.1. Adquisición de imágenes

En esta etapa la imagen se convierte en un conjunto de datos que representan a la imagen original. La imagen es captada a través de lentes, mediante sensores especializados como los sensores Charge - Coupled Device (CCD) y la convierte en señal eléctrica. Posteriormente, se produce la digitalización, que convierte la señal eléctrica en datos que representan a la imagen (información) y luego, ingresada a la unidad de procesamiento (Rodriguez & Sossa, 2012). Los equipos que permiten la adquisición de imágenes son: las cámaras fotográficas, cámaras de video, escáneres, etc. (ver Figura 4).

Figura 4. **Dispositivos de entrada.**
Fuente. http://www.uncrate.com/men/images/sony-DCR-DVD403-camcorder.jpg y http://publicalpha.com/14-videocamara-ano.

El proceso de digitalización, convierte una imagen en un conjunto de datos organizado en forma de una matriz de datos, donde cada elemento de la matriz se denomina píxel (Garcia, 2008). Cada píxel representa la información de la región más elemental de la imagen, como el color o brillo. En imágenes en blanco y negro esta información es el brillo (luminosidad).

En imágenes en color, la información corresponde al brillo de cada uno de los componentes de un modelo de color como: RGB representado por la combinación de los colores primarios: rojo, verde y azul; y los colores secundarios: Cian, Magenta y el Amarillo, tal como se observa en la Figura.

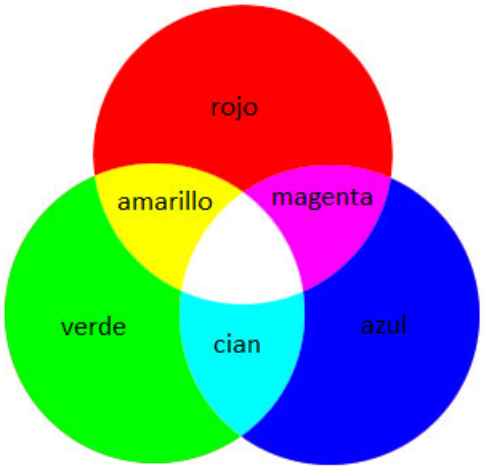


Figura 5. **Modelo de color RGB.**
Fuente. (Garcia, 2008))

La digitalización comprende tres procesos: el muestreo, la cuantificación y la codificación (Proakis & Manolakis, 1998), es realizado por un dispositivo electrónico denominado conversor análogo digital. La imagen captada por los sensores como los Charge – Coupled Device (CCD) la convierte en señal eléctrica, a partir de la cual se realiza el muestreo, es decir se obtienen periódicamente muestras de amplitud de la señal eléctrica. La cuantificación consiste en que una vez obtenidas las muestras de la señal eléctrica, estas son aproximadas a valores en amplitud (voltios) preestablecidos (Rodriguez & Sossa, 2012). Luego se produce el proceso de codificación, el cual consiste en asignar a estos niveles de amplitud, valores binarios, y en este instante cada muestra se convierte en dato o píxel. La digitalización separa cierta cantidad de datos en forma ordenada y que constituye la matriz que representa a la imagen (ver Figura 6).

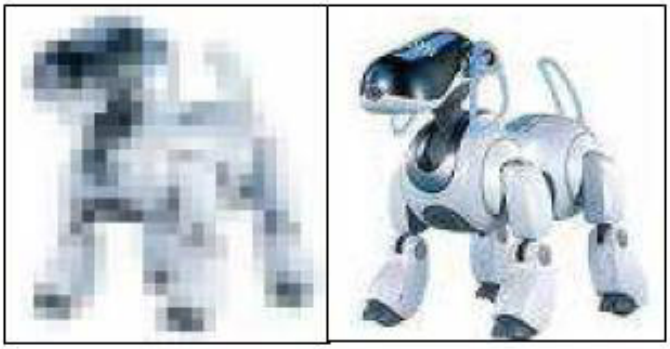


Figura 6. **Imágenes de baja resolución izq. y alta resolución der.**
Fuente. (Garcia, 2008).

En la Figura 6, en lado izquierdo, se observa una baja resolución del sensor CCD para capturar la imagen, en cambio en el lado derecho se observa una buena resolución del sensor al momento de captar la imagen (Mejía, 2005). El sensor CCD es un conjunto de fotoceldas ordenadas en forma de una matriz que captan la imagen. La nitidez de la imagen captada depende de la

cantidad de fotoceldas que posee el sensor. Es decir a mayor cantidad de fotoceldas mejora la nitidez de la imagen.

2.3.2.2. Procesamiento

Se encuentra constituido por un sistema digital gobernado por un procesador y por programas que permiten realizar el procesamiento digital de las imágenes mediante algoritmos (Gonzalez, 2009). Está unidad es fundamental para el sistema y constituye la etapa más compleja desde el punto vista del desarrollo del sistema. Su implementación depende del tipo de aplicación del procesado digital de imágenes.

Los procesadores varían desde microprocesadores especializados hasta arreglos de microprocesadores (Cuevas, Zaldivar, & Perez, 2010). Se encargan de procesar las imágenes mediante un software o programa. El objetivo del procesamiento es obtener información de la imagen o modificarla dependiendo de las aplicaciones (Mejía, 2005). En la actualidad existen diversos equipos que realizan el procesamiento de imágenes, como tarjetas especializadas con Graphics Processing Unit (GPU) y computadoras gráficas, hasta centros de procesamiento digital de imágenes (ver Figura 7).

Figura 7. **Unidad grafica de procesamiento ASUS GTX.**
Fuente: http://folding.stanford.edu.pe/home/faq/faq-nvidia/

La GPU es un dispositivo que permiten a la computadora aliviar las funciones de procesamiento digital de imágenes, debido a que presentan una arquitectura de múltiples núcleos de procesadores para el procesamiento de imágenes.

2.3.2.3. Almacenamiento

Una parte muy importante y diferenciable del Procesamiento, es la memoria, o dispositivo físico en el que quedan almacenados los datos (imágenes y el programa). Las imágenes provenientes del digitalizador son almacenadas en la memoria y el programa es establecido de acuerdo al tipo de aplicación (Gonzalez, 2009). Existen tres categorías básicas:

- Almacenamiento a corto plazo.
- Almacenamiento en línea.
- Almacenamiento en archivo.

El almacenamiento a corto plazo, se emplea durante el procesamiento, como son las memorias que poseen las placas de las computadoras o las tarjetas especializadas como las GPU, donde se almacenan las imágenes a las que se pueden acceder con rapidez, que puede ser una velocidad de 30 imágenes/segundo, en la Figura 8 se observa un ejemplo .

Figura 8. **Memoria DDR4 VERGERNCE**.
Fuente.http://www.corsair.com/es-es/vengeance-lpx-16gb-4x4gb-ddr4-dram-2666mhz-c15-memory-kit-black-cmk16gx4m4a2666c.

El almacenamiento en línea, se emplea para una reutilización relativamente más rápida en forma frecuente, entre este tipo de dispositivos están los discos duros de las computadoras en la Figura 9 se observa un ejemplo.

Figura 9. **Disco duro interno KINGSTON 240 GB.**
Fuente. http://www.phototecnia.com/almacenamiento/229-kingston-ssd-240gb-v200-sata.html.

El almacenamiento en archivo, se caracteriza por almacenar las imágenes en forma masiva pero de acceso poco frecuente (Gonzalez, 2009), entre este tipo de dispositivos podemos encontramos los discos duros externos, los discos ópticos, entre otros en la Figura 10, se observa un ejemplo.

Figura 10. **Discos ópticos FUJIFILM de 1 TB.**
Fuente:http://www.itespresso.es/fujifilm-comercializara-los-discos-opticos-de-1tb-en-2015-55753.html.

2.3.2.4. Comunicación

Se encarga de la comunicación entre los elementos del Sistema de Procesamiento Digital de Imágenes con la etapa de procesamiento, son de tipo: cableadas, inalámbricas, locales y remotas (Gonzalez, 2009).

La comunicación está basada en diferentes normas de comunicación entre dispositivos electrónicos, para distancias cortas como Universal Serial Bus (USB), Higyh Definition Multimedia Interface (HDMI), que definen protocolo y conectores en forma cableada y local (ver Figura 11). En forma remota es cableada o inalámbrica como Internet Protocol Version 4 (IPv4), satelital, etc.

Figura 11. **Conectores USB.**
Fuente. http://www.teknoplof.com/2010/08/03/no-te-pierdas-con-los-conectores-usb/

2.3.2.5. Presentación

En la actualidad hay muchos tipos de dispositivos que permiten visualizar las imágenes digitales (los datos organizados en forma matricial (Mejía, 2005), y que representan a la imagen digital) tales como los monitores fabricados con diferentes tecnologías (Gonzalez, 2009).

El desarrollo de nuevas tecnologías para la representación de imágenes digitales es cada vez más importante, por el rol que desempeñan en los medios informáticos y audiovisuales.

Entre los equipos que constituyen la unidad de salida se encuentran los monitores y los proyectores de pantalla con tecnología LCD-LED (Light Cristal Display-Light Emitting Diode). Se caracterizan en el caso de los monitores por producir menos cansancio a la vista y las imágenes son de mayor calidad. Finalmente el menor consumo de energía eléctrica el cual tiene un impacto positivo en el ambiente por ahorrar recursos energéticos (Mejía, 2005).

Figura 12. **Dispositivos de salida.**
Fuente.http://www.google.com.pe/imgres?imgurl=http://imagenes.acambiode.com/empresas/1/8/9/9/189900800820675655657555069455 0/productos/2ALFA%2520PROYECTOR.jpg&imgre

2.3.3. Procesamiento digital de imágenes (PDI)

Es un campo de estudio que trata acerca de las teorías, modelos y algoritmos de tratamiento de imágenes. Para transformarlas, mejorándolas o extrayendo información a partir de estás. El PDI es parte de la Visión por Computador (Mejía, 2005), que es un subcampo de la inteligencia artificial cuyo propósito es programar una computadora para que “entienda” la escena o las características de una imagen (Gonzalez, 2009) (Bernard, 2002).

Los programas que realizan el tratamiento de la información de las imágenes, tienen por finalidad mejorar las imágenes y extraer información de ellas.

Existen tres tipos de procesamiento digitalizado: bajo, medio y alto nivel de procesamiento (González, 2009).

El procesamiento de bajo nivel se refiere a operaciones iniciales, como el procesamiento de imagen para reducción de ruido, realzar el contraste y el realce de características, en el cual la entrada y salida del proceso son imágenes (Platero, 2009).

La reducción de ruido en la imagen se realiza a través de la implementación de filtros digitales de imágenes como los filtros promedio, mediana, pasa bajo, pasa alto, etc.

La mejora de contraste se realiza mediante técnicas como de los histogramas (Rodriguez & Sossa, 2012), lógica difusa entre otras que permiten homogenizar la imagen en cuanto a la distribución de regiones claras y oscuras.

El realce de las características se logra mediante las matrices denominadas máscaras como la de Sobel, Prewit entre otras que permiten resaltar los bordes o detección de bordes (Blanchet, 2006) ver Figura 13.

Figura 13. **Detección de bordes.**
Fuente. http://elgva1.usc.es/~mjose/docencia/3ciclo/tema2.htm

El procesamiento de nivel medio en imágenes, comprende tareas como la segmentación de la imagen (Mejía, 2005), el etiquetado de regiones y el cálculo de descriptores como el perímetro, área, puntos críticos y otros. La mayor parte de la información de una región está en su contorno y en sus puntos de mayor curvatura, denominados puntos dominantes o críticos. En este nivel de procesamiento, las entradas generalmente son imágenes pero la salida son atributos extraídos desde esas imágenes (Gonzalez, 2009).

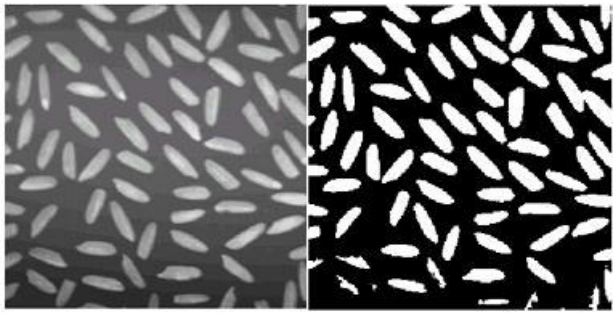


Figura 14. **Imágenes: derecha I. original e izquierda I. segmentada.**
Fuente. Elaboración propia.

El procesamiento de alto nivel involucra el análisis de imagen. Se intenta simular funciones cognitivas asociadas normalmente con la visión, el reconocimiento de patrones y el post-procesamiento requerido (Garcia, 2008). Aquí se observa la gran importancia que tienen las tareas

del nivel medio, pues simplifican y aun posibilitan las de nivel alto. Este tipo de procesamiento incluye la aplicación de clasificadores como las redes neuronales artificiales y otros métodos que permiten realizar funciones cognitivas (Gonzalez, 2009).

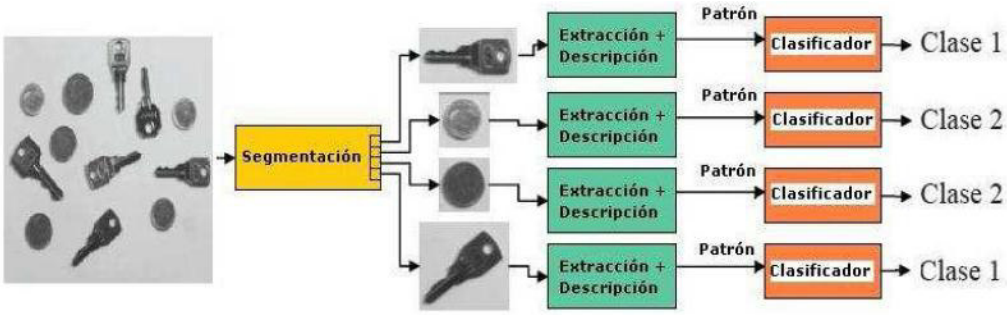


Figura 15. **Análisis y clasificación.**
Fuente. (Garcia, 2008) .

No todas las aplicaciones del Procesamiento Digital de imágenes requieren cumplir con los tres procesos (Garcia, 2008), esto, depende de la complejidad de la aplicación, a mayor complejidad más son los procesos que se involucran en el desarrollo.

2.3.4. Procedimiento para el conteo células sanguíneas mediante el procesamiento digital de imágenes

Entre las múltiples aplicaciones de los sistemas de procesamiento digital de imágenes se encuentra el procesamiento digital de imágenes de organismos microscópicos (Platero, 2002). En el caso específico de las células de tejido sanguíneo, se requiere seguir el siguiente procedimiento:

- Obtención de las muestras de tejido sanguíneo.
- Procesamiento digital de las imágenes de las células.

2.3.5. Obtención de las muestras de tejido sanguíneo.

Una muestra de sangre se extrae de una vena del brazo, se pone un torniquete que impide su paso, con lo que las venas que quedan por debajo se hinchan y es más fácil introducir en ellas una aguja. Se observa el procedimiento (Ver Figura 16, 17 18). Para algunas pruebas especiales, se obtiene la sangre de una arteria en vez de una vena, por ejemplo en una muñeca (INS, 2005).

La sangre obtenida se introduce dentro de varios tubos, muchas veces con tapones de diferentes colores. Cada color representa un aditivo diferente que se añade a la sangre y sirven para conservar la muestra en las mejores condiciones para la realización de cada prueba (INS, 2005). Los aditivos para diferentes pruebas no son los mismos y la forma de etiquetar para cada tubo es en función del color de su tapón.

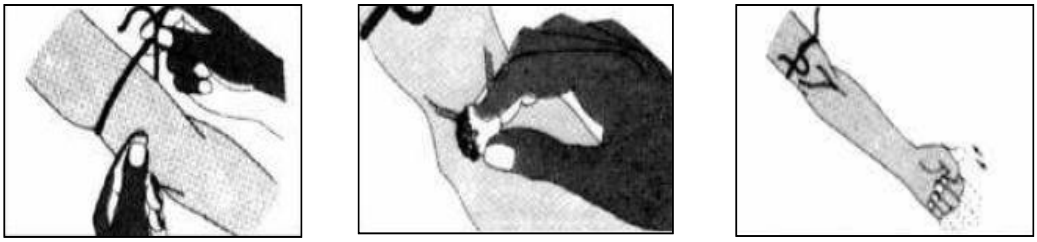


Figura 16. **Limpieza con alcohol de la zona de extracción de sangre**.
Fuente. Manual de Procedimientos de Laboratorio en Técnicas Básicas de Hematología del Instituto Nacional de Salud –Ministerio de Salud.

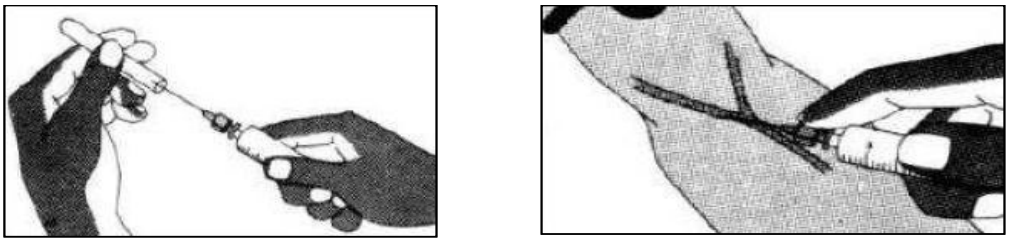


Figura 17. **Extracción de una muestra de sangre.**
Fuente. Manual de Procedimientos de Laboratorio en Técnicas Básicas de Hematología del Instituto Nacional de Salud –Ministerio) de Salud.

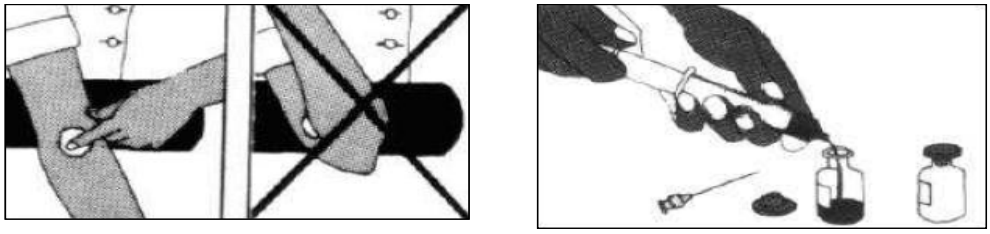


Figura 18. **Retiro de la aguja y torniquete luego se vierte la muestra lentamente**.
Fuente. Manual de procedimientos de laboratorio en técnicas básicas de hematología del instituto nacional de salud - Ministerio de Salud.

La prueba vinculada al conteo e identificación de células sanguíneas se denomina hemograma.

El análisis de sangre es un método que permite conocer el estado de salud de una persona mediante la evaluación de la sangre y el plasma (MINSA, 2013).

Los principales componentes de la sangre son los glóbulos rojos, los glóbulos blancos (hematíes), las plaquetas y el plasma sanguíneo como sustancia intercelular.

De los glóbulos rojos o eritrocitos se mide:

- Número por unidad de volumen
- Hematocrito (Hct): Porcentaje del volumen que ocupan los hematíes sobre el volumen total de sangre.
- Cantidad de Hemoglobina por unidad de volumen de sangre (HGB). Cuando su resultado es menor de lo normal se dice que se tiene anemia.

- Volumen corpuscular medio (VCM ó MCV): la media de volumen que tienen los hematíes.

- Hemoglobina corpuscular media (HCM ó MCH): la media de cantidad de hemoglobina que tiene cada hematíe.

- Concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM ó MCHC): la media de cantidad de hemoglobina por unidad de volumen de hematíes.

- Distribución de volumen (RDW): Mide si existen grandes diferencias de tamaño entre unos hematíes y otros.

De los glóbulos blancos o leucocitos se mide:

- Número total por unidad de volumen de sangre (generalmente abreviado como LEU).

- Número total por unidad de volumen de sangre, está última forma de expresión es la que debe tener en cuenta (INS, 2005) y los leucocitos (Lewis, Bain, & Bates, 2008), se agrupan en:

  - Neutrófilos.
  - Linfocitos.
  - Monocitos.
  - Eosinófilos.
  - Basófilos.

De las plaquetas se mide:

- Su número total por unidad de volumen de sangre (PLQ ó PLA).

- Plaquetocrito: Porcentaje del volumen de plaquetas sobre el volumen total de sangre.

- El volumen plaquetar medio (VPM ó MVP): la media del volumen de las plaquetas

- Distribución de volumen (PDW): Mide si existen grandes diferencias de tamaño entre unas plaquetas y otras.

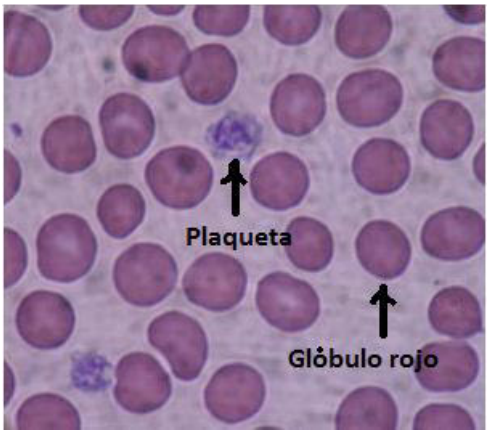


Figura 19. **Plaquetas y glóbulos rojos.**
Fuente. https://es.wikipedia.org/wiki/Plaqueta.

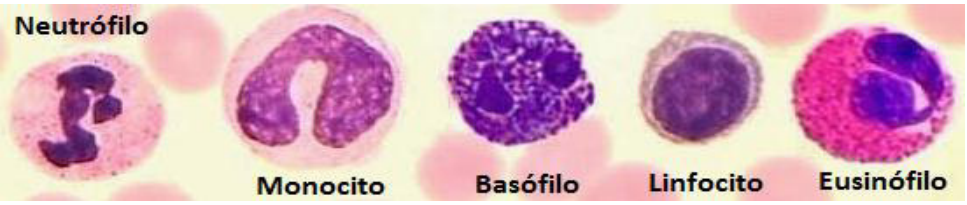


Figura 20. **Glóbulos blancos.**
Fuente. http://bienestaysa.blogspot.pe/2013/10/los-globulos-blancos-la-defensa-del.htm.

2.4. Procesamiento digital de las imágenes de las células

Una vez obtenida la muestra de sangre y colocada en el microscopio, esté se conecta a una cámara digital para obtener la imagen del tejido sanguíneo que es el objeto de estudio del sistema (Bustamante, 2016). El

diagrama de bloques (Figura 21), muestra cada una de las etapas del sistema las que se describe a continuación:

- Captación de Imágenes.
- Procesamiento de nivel bajo.
- Procesamiento de nivel medio.
- Procesamiento de nivel alto.

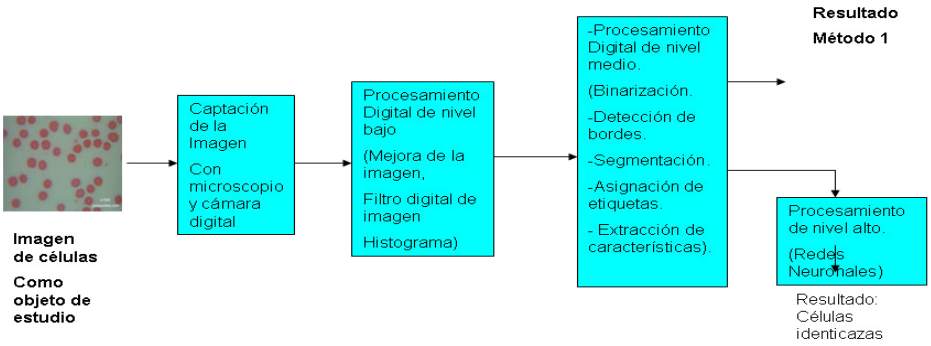


Figura 21. **Procesamiento digital de imágenes para el conteo e identificación de células sanguíneas.**
Fuente. Elaboración propia.

El sistema de procesamiento digital imágenes en cual se realiza el procesamiento digital de imágenes se ilustra en la siguiente Figura 22, donde se observa el microscopio.

Figura 22. **Sistema de Procesamiento digital de imágenes para el conteo e identificación de células sanguíneas.**
Fuente. Elaboración propia

2.4.1. Captación de Imágenes

La captación de imágenes al sistema se realiza con la ayuda de una cámara digital adaptada al microscopio (Bustamante, 2016). En esta etapa se deben considerar algunas características técnicas como la resolución de la imagen a ser capturada, el pixel, la microscopia, nivel de aumento en el microscopio, ocular, objetivos (óptica), nivel de iluminación y hemograma. Otro aspecto es el nivel adecuado de iluminación del objeto a ser captado.

Figura 23. **Cámara digital y microscopio**.
Fuente.http://cristinita2.files.wordpress.com/2009/01/camara-digital-casio-ex-z1200.jpg http://deconceptos.com/wp-content/uploads/2009/02/concepto-de-microscopio.jpg

En esta etapa es necesario considerar algunos conceptos que permitan comprender el aspecto técnico de la captación de imágenes:

2.4.1.1. Resolución

Cantidad de píxeles de una imagen. La calidad de la imagen aumenta en la medida que se puede representar con la mayor cantidad de píxeles y mayor será le grado de detalle de la imagen (Gonzalez, 2009).

2.4.1.2. Pixel

Elemento que representa la menor unidad homogénea que forma parte de una imagen digital, ya sea esta una fotografía, un fotograma de vídeo o un gráfico (Mejía, 2005).

2.4.1.3. Megapíxel

Equivale a 1 millón de píxeles (a diferencia de otras medidas usadas en la computación en donde se suele utilizar la base de 1024, en lugar de 1000, para los prefijos debido a su conveniencia con el uso del sistema binario (Calderón, 2017). Usualmente se utiliza esta unidad para expresar la resolución de imagen de cámaras digitales; por ejemplo, una cámara que puede tomar fotografías con una resolución de 2048 × 1536 píxeles se dice que tiene 3,1 megapíxeles (2048 × 1536 = 3.145.728).

2.4.1.4. Microscopía

Técnica de producir imágenes visibles de estructuras o detalles demasiado pequeños para ser percibidos a simple vista (Ciacciarella, 2017). En la microscopía se evidencia los grandes aportes que la física ha hecho a la biología.

2.4.1.5. Nivel de Aumento en el Microscopio

Indica el aumento de las imágenes mediante el conjunto de lentes que lo componen. Está formado por el ocular y los objetivos (GB-CNBA, 2017). El objetivo proyecta una imagen de

la muestra que el ocular luego amplía, los aumentos pueden ser por ejemplo: 10X (10 veces), 40X (40 veces) y 100X (100 veces).

2.4.1.6. Ocular

Sistema de lentes situado en la parte superior del tubo del microscopio. Su nombre se debe a la cercanía de la pieza con el ojo del observador (Hubard, 2017). Tiene como función aumentar la imagen formada por el objetivo. Los oculares son intercambiables y sus poderes de aumento van desde 5X hasta 20X. Existen oculares especiales de 20X y otros que poseen una escala micrométrica; estos últimos tienen la finalidad de medir el tamaño del objeto observado.

2.4.1.7. Objetivos (Lentes)

Cada objetivo capta la luz de la muestra, los objetivos dispuestos en una pieza giratoria del microscopio denominada revólver cerca al objeto de la imagen que produce el aumento de las imágenes de los objetos y organismos (MEDIC, 2017). Los objetivos utilizados corrientemente son de dos tipos: objetivos secos y objetivos de inmersión

2.4.1.8. Nivel de Iluminación

Se mide en lúmenes, cada lumen es la medida de la "cantidad" total de luz visible en un ángulo determinado, o emitida por una fuente dada sobre una superficie plana (NOAO, 2017). Por ejemplo, una bombilla incandescente de 100 watts emite aproximadamente 1700 lúmenes, mientras que una lámpara

de vapor de sodio de la misma potencia emite alrededor de 15.000 lúmenes, unas nueve veces más.

2.4.1.9. Hemograma

Prueba de laboratorio que sirve para el conteo de la cantidad y las propiedades de los llamados "elementos formes de la sangre", es decir, glóbulos rojos (hematíes), glóbulos blancos (leucocitos) y plaquetas (Medlineplus, 2017).

La muestra para la realización del hemograma se extrae habitualmente en tubos que llevan un aditivo llamado ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) que impide que la sangre se coagule (suelen tener tapón de color morado), denominado tubo EDTA, luego se coloca una muestra en la Cámara de Neubauer. Se trata de un porta objeto para efectuar el conteo de células y lleva impreso cuadriculas como referencia para el conteo de células.

2.4.2. Procesamiento de nivel bajo

En esta etapa la imagen se mejora con la finalidad de superar algunas imperfecciones o defectos que pudiera tener la imagen (Mejía, 2005). Se efectúa, el cambio de imagen a color de acuerdo a modelos RGB, HSV, a niveles de gris, el uso de técnicas como el filtrado digital de las imágenes (Gonzalez, 2009). Otro aspecto es la adecuada iluminación del objeto de la imagen para mejorar este aspecto se emplea, la técnica del histograma (Ecualización del histograma), manejo del contraste. Se exponen a continuación los temas relacionados al procesamiento de nivel bajo.

2.4.2.1. Modelo de Color

El modelo de color es una formulación matemática que permite representar los colores usando los componentes cromáticos (Gonzalez, 2009). Facilita la especificación de los colores de una forma normalizada y aceptada genéricamente. El modelo de color especifica un sistema de coordenadas tridimensional y también especifica un sistema en que cada color quede representado por un único punto (Gonzalez, 2009).

Gran parte de los modelos de color empleados en la actualidad están orientados bien hacia el hardware como monitores e impresoras (Gonzalez, 2009), o bien hacia aplicaciones donde se pretende manipular el color. Los modelos orientados hacia el hardware son: Red-Green-Blue (RGB[1]) y Cian-Magenta-Yellow (CMY[2]).

Entre los modelos que se emplean frecuentemente en el procesado de imágenes son: RGB, Hue-Saturation-Intensity (HSI), Hue-Saturation-Value (HSV[3]). Generalmente resuelve el problema de tener que representar un pixel a color con un sólo valor.

2.4.2.2. Modelo RGB

Este modelo aparece con sus componentes de color: rojo, verde, azul. Se basa en un sistema de coordenadas cartesianas (Gonzalez, 2009) (Bernard, 2002). Se muestra en la Figura 24 mediante un cubo, en el que los valores RGB están en tres

[1] En español: rojo, verde y azul.
[2] En español: cían, magenta y amarillo
[3] En español: tono, saturación y valor

vértices; el cian, magenta y amarillo en otros tres vértices; el color negro, en el origen; y el blanco, en el vértice opuesto al origen.

En modelo RGB, la escala de niveles de grises comprende desde el negro (origen) al blanco a lo largo de la diagonal del cubo, y los colores son puntos del cubo o de su interior, definidos por vectores que se extienden desde el origen de coordenadas. Por conveniencia todos los componentes de color RGB han sido normalizados de forma que el cubo de la Figura 24, es el cubo unidad (Gonzalez, 2009).

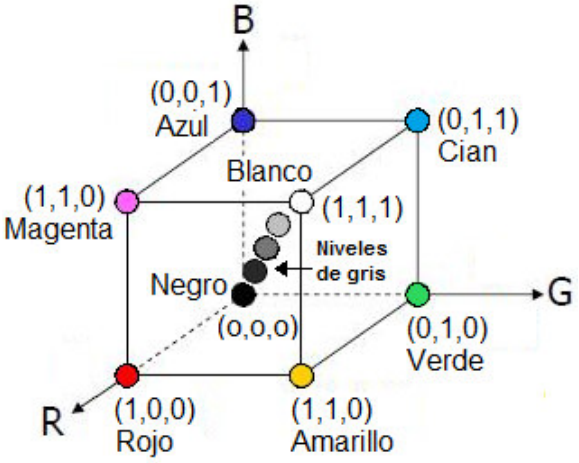


Figura 24. **Componentes normalizados RGB**
Fuente.http://www.gphysics.net/pages/druyd-content.php?type=content&id_course=1&id_title=12&id_storyboard=352&id_language=2&header=no.

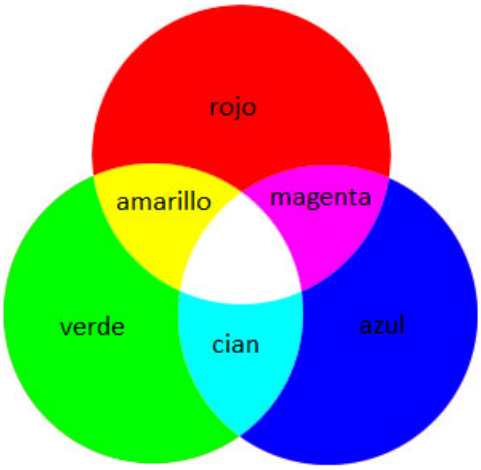


Figura 25. **Modelo de colores RGB.**
Fuente. http://www.paletacolores.com/tonalidades/magenta/.

2.4.2.3. Conversión de nivel gris

La conversión de una imagen de color a niveles de gris se realiza mediante el cálculo del equivalente de un pixel a color dado a un pixel de niveles de gris (luminancia) mediante la ponderación de las distintas componentes de color de cada píxel (Cuevas, Zaldivar, & Perez, 2010). Para realizar la conversión basta con aplicar esta ecuación con los coeficientes con aproximación a dos decimales:

$$Y = 0.299*R + 0.587*G + 0.114*B$$

Dónde:

Y: Equivalente en niveles de gris.

R: Equivalente en niveles de rojo.

G: Equivalente en niveles de verde.

B: Equivalente en niveles de azul.

Figura 26. **Cambio de colores a niveles de gris**
Fuente.http://www.viajesgenesis.travel/1/index.php?option=com_content&view=article&id=197:caribe&catid=13&Itemid=140.

En la Figura 26, se observa una ilustración de este proceso, en la cual se muestra una imagen a color convertida a una imagen en niveles de gris.

2.4.2.4. Modelo HSV

Es una transformación no lineal del modelo RGB en coordenadas cilíndricas de manera que cada color viene definido por los siguientes parámetros: el matiz o tono (H), la saturación (S) y el valor del color (V) (Cuevas, et al, 2010). La matiz o tono (H) se representa mediante una región circular (circulo de colores). La saturación (S) y el valor (V) se representan por una región triangular (triángulo rectángulo), donde el eje horizontal (cateto menor) del triángulo denota la saturación (S), mientras que el eje vertical (cateto mayor) corresponde al valor del color (V). De esta manera, un color es elegido al tomar primero el matiz o tono (H) de una región circular, seleccionar la saturación (S) y el valor (V) del color deseado de la región triangular como se observa en la **Figura 27** y luego en la **Figura 28**.

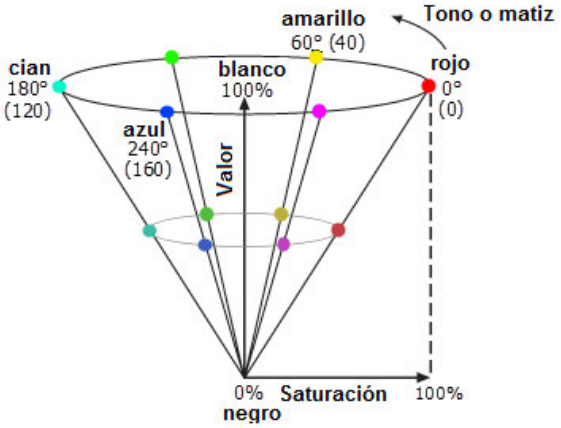


Figura 27. **Componentes de HSV**.
Fuente: https://pro.arcgis.com/es/pro-app/help/data/imagery/color-model-conversion-function.htm.

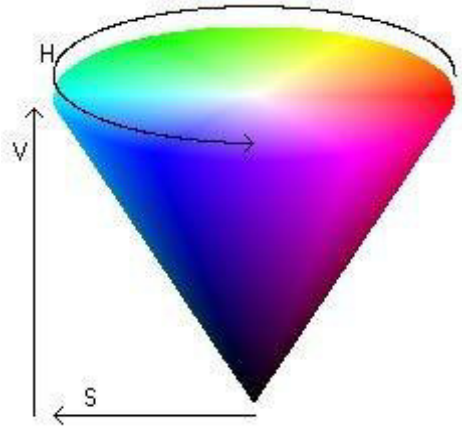


Figura 28. **Modelo HSV**
Fuente.http://www.nawojowa.edu.pl/attachments/Podstawy%20budowy%20obrazu%20komputerowegob.pdf

El matiz o tono se representa como un ángulo cuyos valores posibles varían de 0° a 360^0. Ejemplo 0^0 es rojo, 60^0 es amarillo, 120^0 es verde y azul es 240°. Los valores de saturación posibles varían de 0 al 100%. Dependiendo de la saturación, 0% es negro y 100% es blanco o un color más o menos saturado.

La relación de las coordenadas cartesianas con las coordenadas cilíndricas son las siguientes:

$$x = \rho cos\vartheta, \quad y = \rho sen\vartheta \quad y \quad z = z$$

Según lo expresado se tiene la siguiente Figura 29 que ilustra las equivalencias con las coordenadas cartesianas:

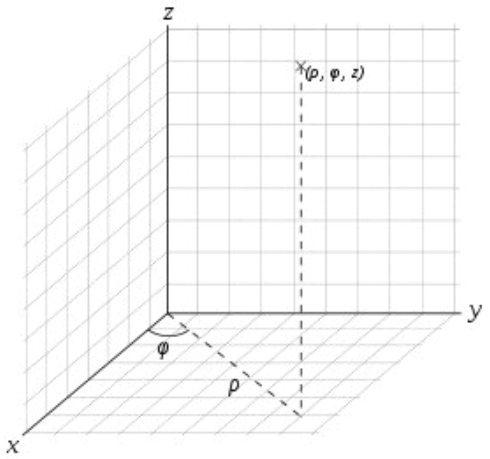


Figura 29 Coordenadas cilíndricas
Fuente:https://es.wikipedia.org/wiki/Coordenadas_cil%C3%ADndricas#/media/File:Cylindrical_with_grid.svg

Donde ϑ corresponde a H en el sistema de coordenadas cilíndricas de 0º a 360ª, ρ corresponde a la saturación S que es la distancia del eje central y z es el eje corresponde a V.

En la siguiente Figura 30 se ilustra, la saturación del color rojo.

Figura 30. **Saturación en HSV.**
Fuente. Elaboración propia.

En la siguiente Figura 31 se ilustra, el matiz, la saturación y valor.

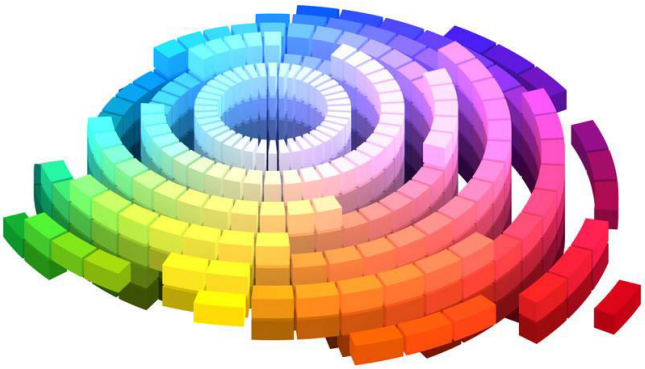


Figura 31. **Matiz, saturación y valor.**
Fuente. https://despachovisual.wordpress.com/category/color/.

Matiz ó tonalidad, H (Hues) cambia a medida que se mueve alrededor del centro.

Saturación, S (Saturation) cambia cuando se mueve del centro hacia afuera.

Valor, V (Value), cambia cuando se mueve de arriba hacia abajo.

Para transformar del modelo RGB a HSV se debe considerar lo siguiente:

Sea Cmax el valor máximo de los componentes (Rn,Gn,Bn) y Cmin el valor mínimo respectivamente, los componentes del espacio HSV se pueden calcular de la siguiente manera:

Cmax = max(Rn, Gn, Bn) y Cmin = min(Rn, Gn, Bn)

Normalizando los componentes RGB

$$Rn = \frac{R}{255}$$

$$Gn = \frac{G}{255}$$

$$Bn = \frac{B}{255}$$

$$H = \begin{cases} \text{no definido}, & \text{si } Cmax = Cmin \\ 60°\left(\dfrac{Gn - Bn}{Cmax - Cmin}\right) + 0°, & \text{si } Cmax = Rn \text{ y } Gn \geq B\,n \\ 60°\left(\dfrac{Gn - Bn}{Cmax - Cmin}\right) + 360°, & \text{si } Cmax = Rn \text{ y } Gn < Bn \\ 60°\left(\dfrac{Bn - Rn}{Cmax - Cmin}\right) + 120°, & \text{si } Cmax = Gn \\ 60°\left(\dfrac{Rn - Gn}{Cmax - Cmin}\right) + 240, & \text{si } Cmax = Bn \end{cases}$$

$$S = \begin{cases} 0, & \text{si } Cmax = 0 \\ 1 - \dfrac{Cmin}{Cmax}, & \text{en otro caso} \end{cases}$$

$$V = Cmax$$

H se representa en grados sexagesimales, S y V de 0 a 1, de acuerdo al modelo y para expresarlo en porcentaje estos dos últimos se multiplican por 100. El valor de H se normaliza dividiendo entre 360 y obtener valores de 0 a 1.

2.4.2.5. Histograma

Se denomina histograma al trazado del número de veces en que se repite cada uno de los niveles de grises de una imagen. En el eje de las abscisas se coloca cada uno de los niveles de grises *r*, de la imagen, mientras que en el eje de las ordenadas se coloca la frecuencia de aparición *h(r)* de cada uno de estos niveles. En muchas ocasiones éste también recibe el nombre de aproximación de primer orden de la función de densidad de la imagen (Rodriguez & Sossa, 2012).

La información que ofrece un histograma resulta valiosa para determinar e interpretar de forma objetiva las características de una imagen sin necesidad de observarla en forma directa. Considerando que el rango dinámico son todos los posibles valores de niveles de gris que puede tener un pixel, es decir [0, L-1], donde L representa el máximo valor, es decir 256 (Rodriguez & Sossa, 2012). Entonces, si una imagen tiene distribuido en casi todo el rango dinámico los valores de sus niveles de grises se puede decir que la imagen presenta un buen nivel de contraste, como se puede observar en la Figura 32.

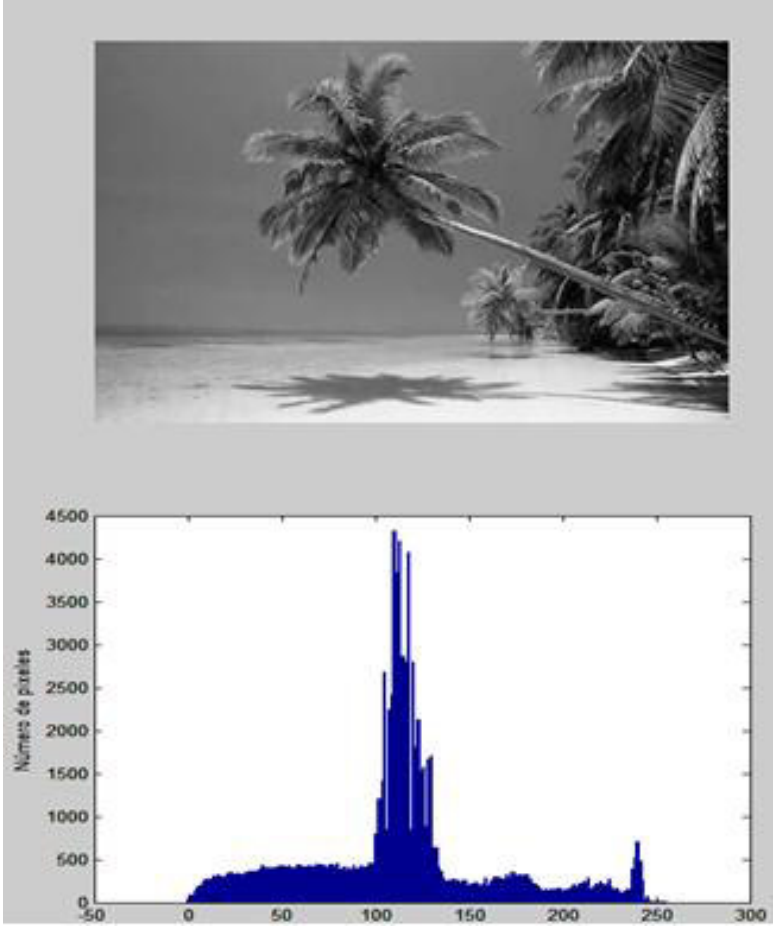


Figura 32. **Histograma de la imagen superior.**
Fuente. Elaboración propia.

2.4.2.6. Ecualización de un histograma

La ecualización es una forma específica de transformación que tiende a lograr una aproximación muy próxima a una distribución uniforme de los valores de la escala de los niveles de grises (Rodriguez & Sossa, 2012). Es decir, la ecualización del histograma pretende darle la misma probabilidad de ocurrencia a todos los niveles de grises, como se puede observar en la Figura 33.

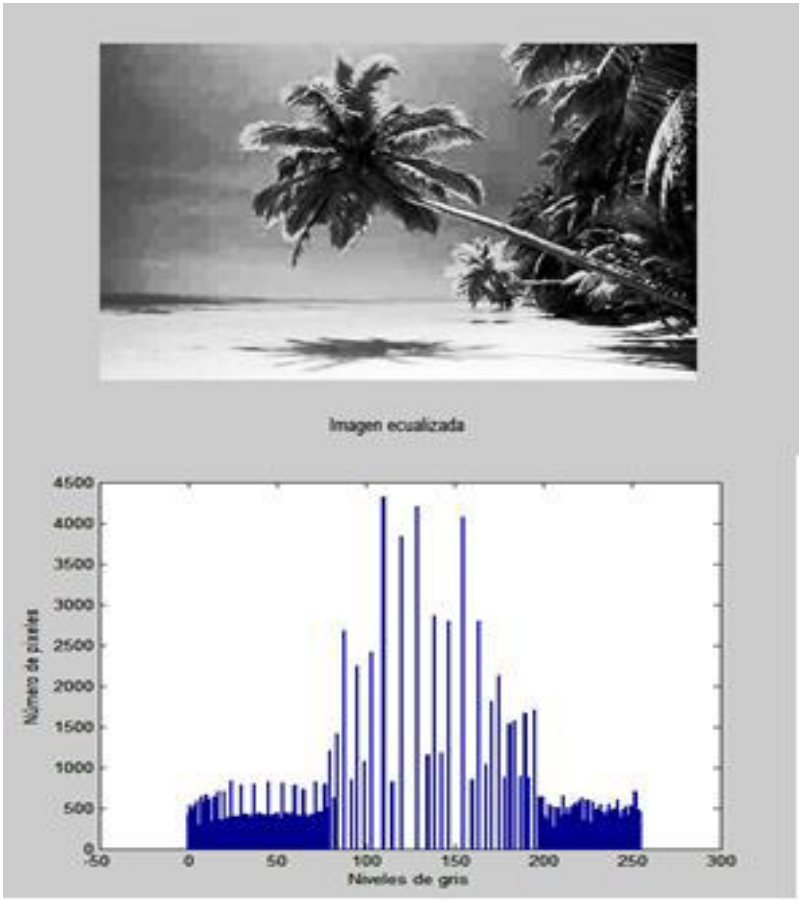


Figura 33. **Ecualización de la imagen superior.**
Fuente. Elaboración propia.

r: representa un nivel de gris de un pixel.

L: representa el número de niveles de gris con el que se puede representar la imagen.

r_k: representa el nivel de gris normalizado respecto al valor de L.

n_k: representa la cantidad de pixeles del nivel correspondiente a r_k

Dónde:

$$r_k = \frac{r}{L}$$

$$h_{(r_k)} = h_{(r)} = n_k$$

$h_{(r_k)}$: representa al histograma normalizado y $0 \leq r_k \leq 1$.

h(r): representa el histograma.

n: representa el número de pixeles de la imagen.

$p_{(r)}$: representa la probabilidad de ocurrencia del nivel correspondiente r_k, también llamado histograma normalizado.

$$p_{(r)} = \frac{n_k}{n}$$

S_k: representa el nivel normalizado producto de la transformación $T_{(r_k)}$ para la ecualización de la imagen.

$$s_k = T_{(r_k)} = \sum_{j=1}^{k} \frac{n_j}{n}$$

2.4.2.7. Filtrado digital de imágenes

Son procedimientos considerados como operaciones en donde el nuevo pixel calculado depende no únicamente del pixel original, sino de otros pixeles que están en una determinada vecindad en relación a él, esta vecindad está relacionada tiene como referencia una matriz denominada máscara que se superpone encima del píxel original ver la Figura 34.

Este tipo de operaciones permiten encontrar el valor de un nuevo pixel a partir de un conjunto de pixeles provenientes de la imagen original sin que esto signifique que exista un cambio de la geometría de la imagen resultante, es decir no se alteran las formas de los objetos de la imagen, de tal forma que la relación entre las imágenes originales y la imagen resultante siga siendo la misma (Blanchet, 2006).

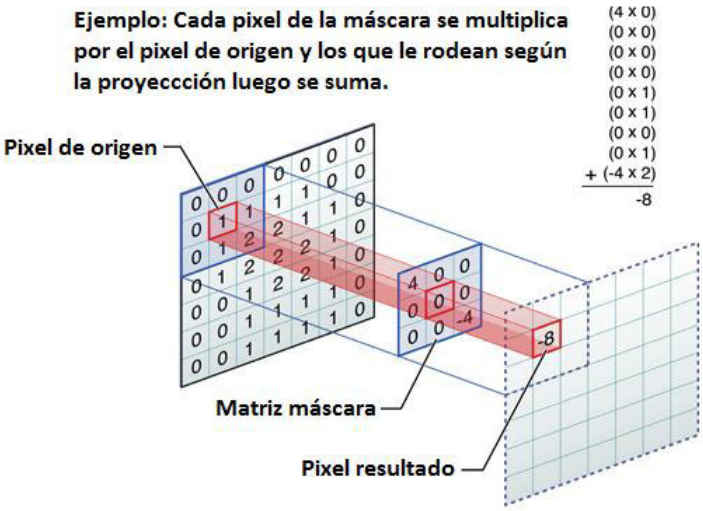


Figura 34. **Proceso de filtrado.**
Fuente. http://www.hexahedria.com/2015/08/03/composing-music-with-recurrent-neural-networks/.

Existen dos tipos de filtros: filtros lineales y filtros no lineales.

2.4.2.8. Filtros lineales

Los filtros lineales se denominan así porque los valores de intensidad de los pixeles dentro de la vecindad del pixel de origen o región de procesamiento se combinan linealmente para generar el pixel resultado (Cuevas, et al, 2010). Un tipo de filtro lineal es el filtro promedio. Con el mismo mecanismo puede definirse un múltiple número de filtros, con diferentes comportamientos sobre una imagen, con el hecho de cambiar los pesos con los que los valores de los píxeles, que se encuentran dentro de la región de procesamiento, se combinan linealmente. El efecto producido por el filtro lineal es el suavizado de la imagen es decir un tanto borroso.

2.4.2.9. Filtro promedio

Los píxeles dentro de la región de procesamiento se combinan linealmente. Para cada pixel (x,y) de la imagen se lleva cabo el siguiente procedimiento: primero, la matriz máscara del filtro H(x,y) es posicionada sobre la imagen original I en el píxel I(x,y), de tal forma que el centro de la matriz H(x,y) coincida con el pixel I(x,y), tal como se observa en la Figura 34 (Cuevas, et al, 2010). Luego, los pixeles de la imagen que se ubiquen dentro de la región R(x,y) que tiene las dimensiones de la matriz máscara definida como H(i,j) son multiplicados por los coeficientes correspondientes a cada posición de la matriz máscara del filtro y el resultado parcial de cada una de estas multiplicaciones es sumado (Cuevas,et al, 2010). Finalmente, el resultado del anterior procesamiento es colocado en la posición I'(x,y), de la imagen resultado.

La matriz máscara del filtro:

$$\mathbf{H(i,j)} = \begin{bmatrix} \frac{1}{9} & \frac{1}{9} & \frac{1}{9} \\ \frac{1}{9} & \frac{1}{9} & \frac{1}{9} \\ \frac{1}{9} & \frac{1}{9} & \frac{1}{9} \end{bmatrix} = \frac{1}{9}\begin{bmatrix} 1 & 1 & 1 \\ 1 & 1 & 1 \\ 1 & 1 & 1 \end{bmatrix}$$

La expresión de la imagen resultado I'(x,y) se calcula utilizando la siguiente expresión:

$$\mathbf{I'(x,y)} = \sum_{(\mathbf{i},\mathbf{j})\in\mathbf{R}(\mathbf{x},\mathbf{y})} \mathbf{I(x+i,y+j).H(i,j)}$$

Luego, para el filtro promedio con una matriz máscara de 3x3 se tendrá la siguiente expresión:

$$\mathbf{I'(x,y)} = \sum_{\mathbf{j=-1}}^{\mathbf{1}} \sum_{\mathbf{i=-1}}^{\mathbf{1}} \mathbf{I(x+i,y+j).H(i,j)}$$

Finalmente, se tiene la siguiente expresión:

$$\mathbf{I'(x,y)} = \frac{\mathbf{1}}{\mathbf{9}} \sum_{\mathbf{j=-1}}^{\mathbf{1}} \sum_{\mathbf{i=-1}}^{\mathbf{1}} \mathbf{I(x+i,y+j)}$$

2.4.2.10. Filtros no lineales

Los filtros no lineales, tienen como característica suavizar la imagen pero de manera no uniforme como si lo hace el filtro lineal, es decir que los bordes, y líneas no son igualmente degradados (Cuevas, et al, 2010). Esto, significa que los coeficientes o valores de la matriz máscara se relacionan con los

pixeles de la región de procesamiento con operaciones no lineales como es el caso del filtro mediana. Están basadas en el orden de los pixeles contenidos de los pixeles de la región de procesamiento o elementos de la matriz de la máscara filtro. La respuesta está determinada por el resultado del ordenamiento.

2.4.2.11. Filtro Mediana

En el filtro mediana, se reemplaza el valor del pixel central de la región de procesamiento por la mediana de los valores de los valores de los pixeles de la región de procesamiento. La mediana es el valor de la variable que deja el mismo número de datos antes y después que el valor de la variable (Cuevas, et al, 2010).

Para calcular los datos que conforman la región de procesamiento R(x,y), solo es necesario realizar dos procedimientos: primero, acomodar los valores de intensidad de la imagen que corresponde a la región de procesamiento, definida por el filtro en forma de vector, después de reacomodar en forma creciente, si existen valores repetidos en el nuevo arreglo también serán repetidos en el nuevo arreglo. Luego, elegir el valor central como la mediana del arreglo tal como se muestra en el siguiente ejemplo:

17	24	1	8	15
23	4	7	14	16
4	6	13	20	22
10	12	19	21	3
11	18	25	2	9

$$\{4,4,6,7,10,12,13,19,23\}$$

Mediana

R (3,2)=10

El filtro mediana se expresa de la siguiente forma:

$$\mathbf{I'(x,y) = M_e(R(x,y))}$$

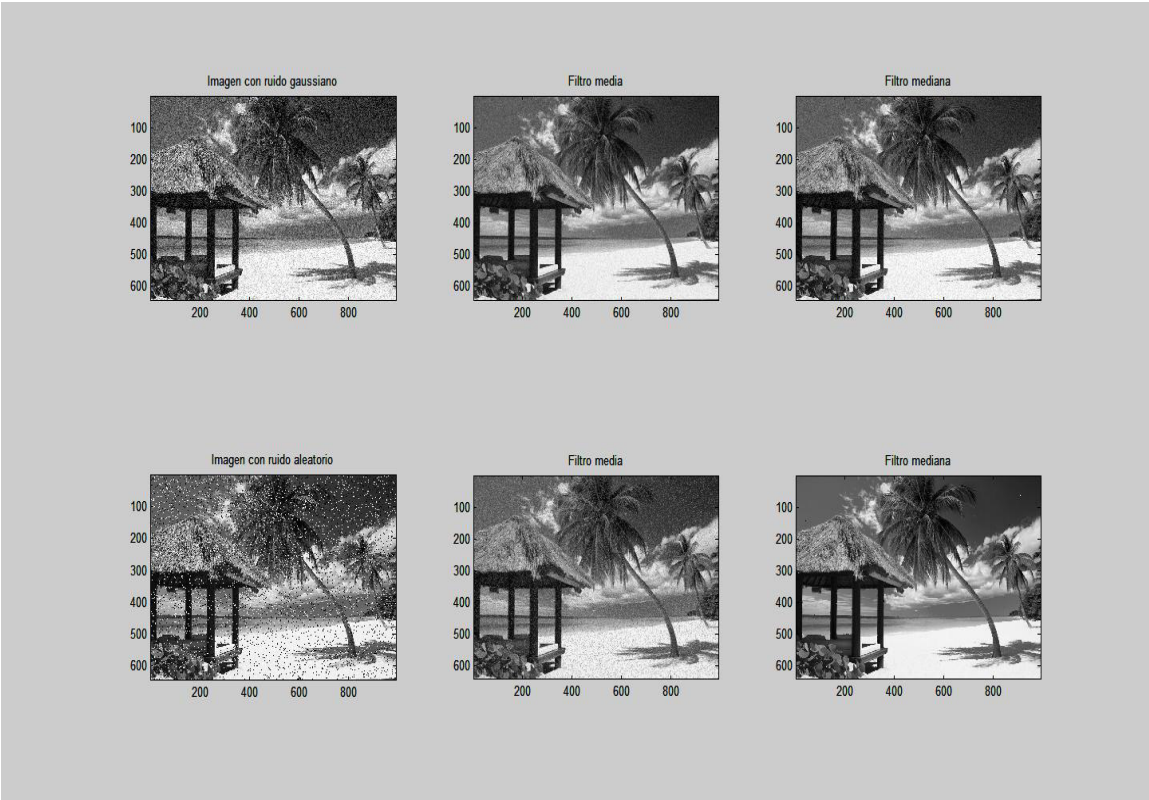


Figura 35. **Las imágenes del extremo izquierdo con efecto de lluvia ("ruido") y las imágenes centrales y del lado derecho luego del filtrado**.
Fuente. Elaboración propia.

2.4.3. Procesamiento de nivel medio

En esta etapa se extrae los descriptores principales de las imágenes para caracterizar un objeto de una imagen son: área, perímetro, compacidad, número de Euler, asimetría, entropía, curtosis, media, desviación estándar (Gonzalez, 2009).

Para la obtención de los descriptores de los objetos mencionados, se realizan procesos como la segmentación por umbralización (método de Otsu o preestablecida), segmentación mediante histograma,

segmentación mediante la Transformada de Watershed, Detección de bordes (máscaras de Prewitts y Canny) en la imagen para resaltar los bordes del objeto en la escena de la imagen (Rodriguez & Sossa, 2012).

2.4.3.1. Segmentación

Es un proceso que consiste en la separación de los objetos de interés del resto no relevante considerado como fondo de la imagen (Rodriguez & Sossa, 2012). Y donde, los objetos de la imagen son regiones que comparten ciertas propiedades, como monedas, granos de arroz, células, etc. Para segmentar la imagen se emplea la umbralización.

2.4.3.2. Umbralización

Se tiene en cuenta las similitudes entre los pixeles correspondientes a un objeto y sus diferencias respecto al resto de los pixeles. La imagen debe caracterizarse por un fondo uniforme y por objetos similares. Por tanto, se usa cuando hay claras diferencias entre los objetos a extraer con relación al fondo de la imagen (Ajoy, 2010).

Cuando se aplica un umbral, la imagen de niveles de grises quedará binarizada (Rodriguez & Sossa, 2012); etiquetando con 1 los pixeles correspondientes al objeto y con 0 aquellos que son del fondo. Por ejemple, si los objetos son claros respecto del fondo, se aplicará.

$$\mathrm{im\_b}(x,y) = \begin{cases} 1 & \mathrm{im\_g}(x,y) > T \\ 0 & \mathrm{im\_g}(x,y) \leq T \end{cases}$$

Donde, im_g(x,y) es la función que retorna el nivel de gris del pixel (x,y), im_b(x,y) será la función que representa la

imagen binarizada y T es el umbral. En el caso de que los objetos sean oscuros respecto del fondo, la asignación sería a la inversa:

$$\mathrm{im\_b}(x,y) = \begin{cases} 1 & \mathrm{im\_g}(x,y) < T \\ 0 & \mathrm{im\_g}(x,y) \geq T \end{cases}$$

Por lo tanto, determinar T es clave para la segmentación mediante la umbralización. El método para hallar T es el método de Otsu. En la práctica lo que se realiza es negar la imagen binarizada de la primera situación.

2.4.3.3. Método de Otsu.

Este método es una de las técnicas más utilizadas para la obtención automática del umbral T para la segmentación de una imagen (Rodriguez & Sossa, 2012). Se basa en la suposición de que la función de densidad del fondo de la imagen, Cf y de los objetos, Co tienen modelo gaussiano, N(μf,σf2) y N(μo, σo2). Cada grupo estará formado por los niveles de grises fijados por el umbral T:

$$C_f = \{0,1,2,\dots,T\} \qquad Co = \{T+1, T+2, \dots, I-1\}$$

El umbral debe de minimizar la suma ponderada de cada una de las varianzas de clases, C_f y C_o, ya que se supone que conforme la suma de las dos normales se aproxime más al histograma real, las desviaciones serán menores.

Para determinar los coeficientes se toman las probabilidades de cada una de las clases. Considerando un valor fijo de umbral, T, las probabilidades de cada categoría serán:

$$P_{C_f} = \sum_{i=0}^{T} p_i \quad P_{C_o} = \sum_{i=T+1}^{I-1} p_i$$

Donde pi es la probabilidad de la intensidad i en la imagen. Las medias y varianzas de cada grupo corresponderán a:

$$\mu_{C_f} = \frac{1}{P_{C_f}} \sum_{i=0}^{T} i.\, p_i \qquad \mu_{C_o} = \frac{1}{P_{C_o}} \sum_{i=T+1}^{I-1} i.\, p_i$$

$$\sigma_{C_f}^2 = \frac{1}{P_{C_f}} \sum_{i=0}^{T} \left(i - \mu_{C_f}\right)^2 .\, p_i \qquad \sigma_{C_o}^2$$

$$= \frac{1}{P_{C_o}} \sum_{i=T+1}^{I-1} \left(i - \mu_{C_o}\right)^2 .\, p_i$$

Siendo entonces la varianza ponderada:

$$\sigma_p^2 = P_{C_f} .\, \sigma_{C_f}^2 + P_{C_o} .\, \sigma_{C_o}^2$$

Se recorre todo el rango de niveles de gris, de T = 0 a I-1, calculándose la varianza ponderada y se elige el umbral, T, que minimiza este valor.

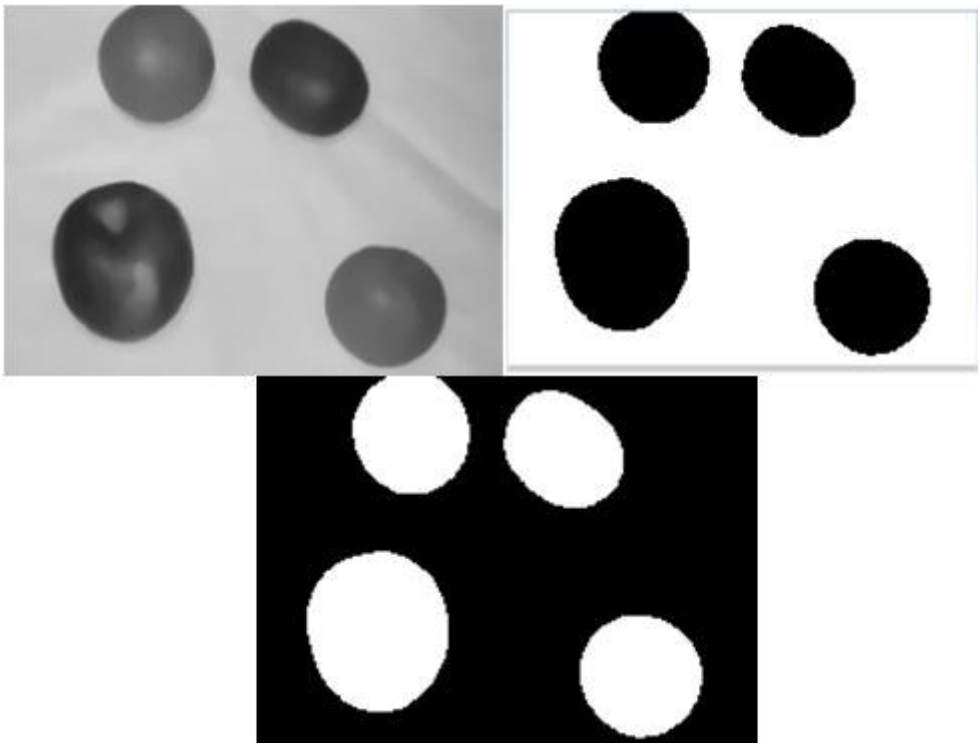


Figura 36. **Binarización (Segmentación) por el Método Otsu T=0.5961, imagen de parte inferior, luego de negar la imagen superior derecha.**
Fuente. Elaboración propia.

2.4.3.4. Segmentación por Histograma

Este tipo de segmentación se basa en tener en cuenta una definición clara de los objetos, respecto del fondo, con una iluminación relativamente uniforme en toda la escena de la imagen (Rodriguez & Sossa, 2012). En la Figura 37, se supone que el histograma está constituido por dos picos y un valle. Al segmentar empleando el histograma, se denota que este proceder no considera las relaciones de vecindad de los pixeles. El umbral estará definido justamente en el valle. El umbral estará definido justamente en el valle profundo.

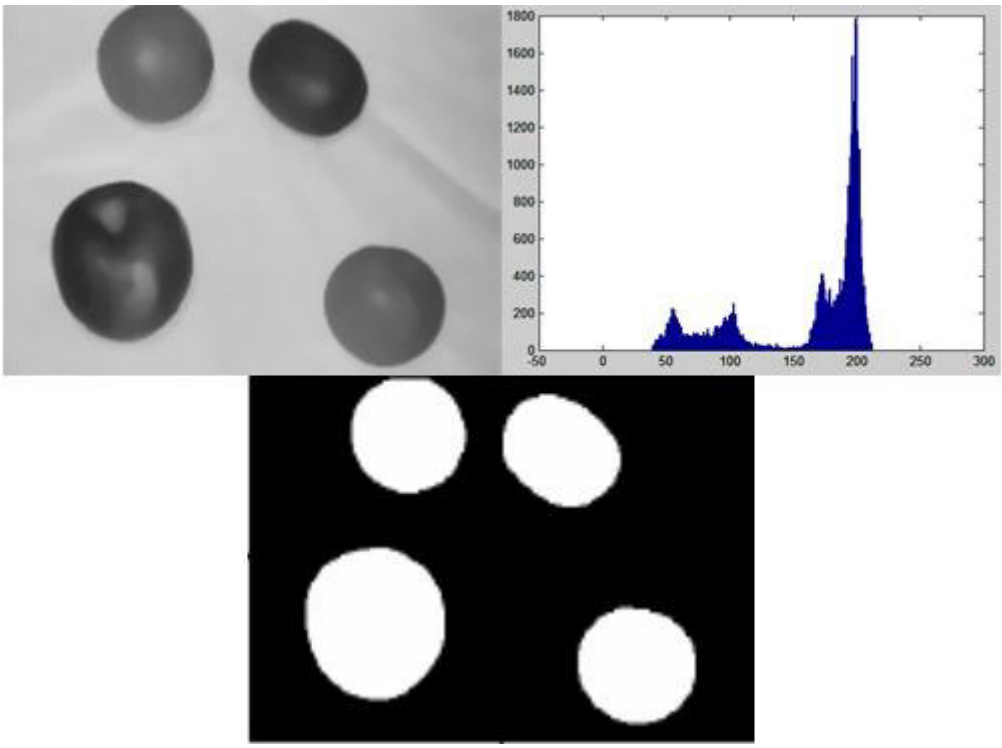


Figura 37. **Imagen de la parte inferior segmentada.**
Fuente. Elaboración propia.

Si $T = 0$ hasta 255

$T_{min} = 170$ valor minimo de valle del histograma.

Si se normaliza el valor de T= 170/255 entonces T= 0.66 en el caso se usen umbrales normalizados.

Esta técnica se aplica a un histograma con N picos y N-1 valles, es decir presentando varios umbrales. Se sugiere aplicar cuando hay pocas regiones separadas con niveles gris cercanos. La segmentación de los objetos de la imagen se realiza mediante detección de los valores mínimos de valles adyacentes como se observa en la Figura 37.

2.4.3.5. Transformada Watershed

En la morfología matemática, las imágenes de niveles de gris son consideradas como relieves topográficas. Es decir, la altura de cada punto corresponde con el nivel de píxel correspondiente. Esta forma de representar es adecuada para percibir el efecto de una transformación de una imagen.

La *Transformada de Watershed* tiene como objetivo dividir la imagen en regiones de niveles de grises analizadas. Por tanto es una técnica de segmentación, donde una de las regiones es el fondo de la imagen y el resto son los objetos o regiones que se pretende extraer (Rodriguez & Sossa, 2012). Finalmente, se trata de determinar los contornos de dichos objetos, donde el problema radica en definir el contorno deseado y cual no lo es. La ventaja de este método es que se obtienen curvas completamente cerradas.

Watershed se sustenta en visualizar una imagen en tres dimensiones, donde dos coordenadas son espaciales y la tercera indica los niveles de gris. Por tanto se consideran tres tipos de puntos:

- Los puntos que corresponden a mínimos locales. Son los que indican los niveles de gris mínimo.
- Los puntos que corresponden a la zona de inundación, es decir aquellos donde sí se coloca una gota de agua, está caerá en el fondo o mínimo.
- Los puntos que corresponde al límite del objeto. Son aquellos donde, si cae una gota de agua, está caería con igual probabilidad en más de uno de estos mínimos.

Supóngase que a cada mínimo regional de la imagen se le abre un hueco. Supóngase, además, que esta superficie topológica es introducida ligeramente dentro de un lago. Comenzando con los mínimos, el agua empezará progresivamente a llenar las diferentes piscinas de desagüe de la imagen. Así para cada uno de los pixeles donde el agua viene de diferentes mínimos comenzará a emerger, esto hace necesario construir tabiques. Al final de este proceso de inmersión, cada uno de los mínimos se encontrará completamente rodeado por tabiques, los cuales servirán para delimitar sus piscinas de desagüe. Estos tabiques corresponden, justamente a los bordes de las regiones de la imagen. En esto consiste el proceso de la *Transformada de Watershed*.

En la imagen, el principal problema es la obtención de los mínimos regionales., En general las imágenes, aparecen alteradas por ruido, lo que produce muchos mínimos locales y por tanto se originan muchas piscinas de desague. Entonces si se aplica directamente la *Transformada de Watershed* a una imagen aparecen muchas líneas de las cuencas, lo cual se conoce como sobresegmentación (Rodriguez & Sossa, 2012). Una alternativa para solucionar la sobresegmentación es definir una función marcadora, es decir, una función capaz de sintetizar de forma correcta las características físicas de los objetos de la imagen, que incluya el fondo. Así, la segmentación estará ligada a función marcadora.

Una manera de obtener una función marcadora sobre la gradiente morfológica seria la siguiente:

- Imponer mínimos a la función del gradiente los cuales serán denominados con M.
- Suprimir los mínimos no deseados del gradiente.

Para lograr el primer paso, se procede asignando a los puntos correspondientes de los mínimos requeridos, un valor negativo arbitrario, tal como ω. Luego, los mínimos no deseados son eliminados llenando las piscinas de desague, manteniendo aquellos puntos etiquetados con el valor ω. Para llevar a cabo esta última operación, se aplica sobre la imagen una reconstrucción en niveles de grises" (Rodriguez & Sossa, 2012). De esta manera, la función marcadora ***g*** es la siguiente:

$$\forall x \in z^2, \begin{cases} x \in M \rightarrow g(x) = \omega \\ x \notin M \rightarrow g(x) = A \end{cases}$$

Donde A es una constante arbitraria mayor que la imagen resultante del gradiente.

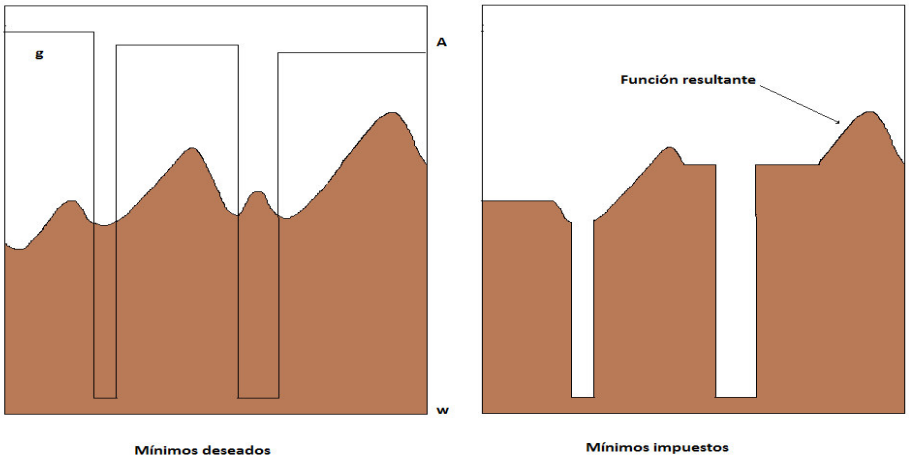


Figura 38. **Watershed.**
Fuente. Elaboración propia.

Como se observa en la imagen de la derecha de la Figura 38, Luego de la reconstrucción morfológica quedan solamente los mínimos regionales deseados. Estos mínimos impuestos se consideran como las marcas de los objetos y es de suma importancia para realizar con posterioridad la transformación de Watershed (Rodriguez & Sossa, 2012). La obtención de marcas adecuadas para las regiones u objetos que serán extraídos es un paso esencial en el proceso de segmentación.

2.4.3.6. Detección de bordes

En una región plana, la información está principalmente en su contorno, por lo que es importante encontrar los puntos que constituyen los bordes de los objetos de la imagen (Gonzalez, 2009). Los cambios en la intensidad de los objetos de la imagen proceden de discontinuidades en las superficies, o también se pueden generar por condiciones de iluminación inapropiadas. Los cambios de intensidad se resaltan mediante las líneas de borde respectiva.

Entre las técnicas que detectan los bordes basadas todas ellas en la diferencia de nivel de gris presentes en los bordes de la imagen es la técnica basada en el gradiente (Rodriguez & Sossa, 2012). La técnica indica que los puntos donde cambian de intensidad los objetos de la imagen, se produce un pico en la primera derivada. Esta debe ser evaluada en al menos dos direcciones, dada la bidimensionalidad de la imagen. Se define el operador gradiente sobre la imagen como:

$$\nabla f(x,y) = \begin{bmatrix} \dfrac{\delta f(x,y)}{\delta x} \\ \dfrac{\delta f(x,y)}{\delta x} \end{bmatrix}$$

Donde *f(x,y)* representa la imagen para detectar los bordes.
Y la magnitud de $\nabla f(x,y)$ es ∇f.

$$\nabla f = \left[\left(\frac{\partial f}{\partial x}\right)^2 + \left(\frac{\delta f}{\delta y}\right)^2\right]^{\frac{1}{2}}$$

Considerando la matriz máscara:

$$\begin{bmatrix} z_1 & z_2 & z_3 \\ z_4 & z_5 & z_6 \\ z_7 & z_8 & z_9 \end{bmatrix}$$

Donde se calcula cada pixel de la imagen resultante luego de aplicar la máscara resulta de la siguiente operación:

$$\nabla f = |(z_7 + z_8 + z_9) - (z_1 + z_2 + z_3)| + |(z_3 + z_6 + z_9) - (z_1 + z_4 + z_7)|$$

Las máscaras conocidas como operadores que se aplican a la matriz de imagen fuente son las siguientes:

2.4.3.7. Prewitt:

Si $E_x = \frac{\partial f}{\partial x}$ y $E_y = \frac{\partial f}{\partial y}$

$$E_x = \begin{bmatrix} -1 & -1 & -1 \\ 0 & 0 & 0 \\ 1 & 1 & 1 \end{bmatrix} \quad y \quad E_y = \begin{bmatrix} -1 & 0 & 1 \\ -1 & 0 & 1 \\ -1 & 0 & 1 \end{bmatrix}$$

2.4.3.8. Canny

Este algoritmo combina método de gradiente con el método de filtro gaussiano (Valverde, 2016). Se obtiene mediante la aplicación de cuatro fases para su implementación:

- Se obtiene la gradiente de la imagen filtrada mediante un filtro gaussiano.

$$G(x,y) = \left(\frac{1}{2\pi\sigma^2}\right) e^{\left(-\frac{m^2-n^2}{2\sigma^2}\right)}$$

$$G = \frac{1}{273}\begin{bmatrix} 1 & 4 & 7 & 4 & 1 \\ 4 & 16 & 26 & 16 & 4 \\ 7 & 26 & 41 & 26 & 7 \\ 4 & 16 & 26 & 16 & 4 \\ 1 & 4 & 7 & 4 & 1 \end{bmatrix}$$

Para $\sigma = 1$

$$S(x,y) = f(x,y) * G(x,y)$$

$$S(x,y)\ es\ la\ \ imagen\ filtrada\ con\ filtro\ gaussiano$$

$$\nabla S = \left[\left(\frac{\partial S}{\partial x}\right)^2 + \left(\frac{\delta S}{\delta y}\right)^2\right]^{\frac{1}{2}}$$

$$\theta(x,y) = arctan\left(\frac{S_x}{S_y}\right)$$

- Supresión no máxima al resultado del gradiente, que tiene como finalidad obtener un grosor del borde de un pixel.
- Histéresis a la supresión no máxima al resultado de la gradiente: permite eliminar los máximos procedentes de ruido.
- Cierre de contorno de bordes.

Los propósitos del operador de Canny son los siguientes:

- Buena detección de bordes, marcando el mayor número de bordes reales.
- Buena localización ubicando la marca lo más cercano al borde de la imagen real.
- Respuesta mínima, el ruido de la imagen no debe crear falsos bordes.

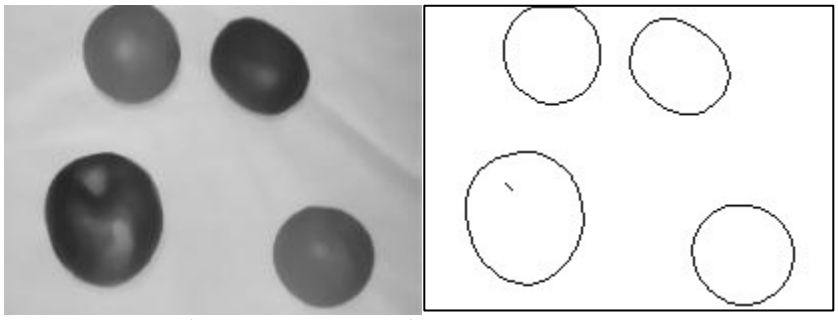


Figura 39. **Detección de bordes con máscara de Prewitt.**
Fuente. Elaboración propia.

62

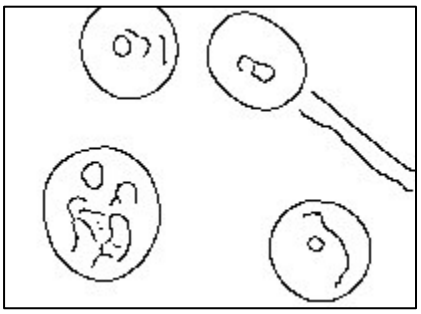


Figura 40. **Detección de bordes con máscara de Canny pero con presencia de falsos bordes.**
Fuente. Elaboración propia.

2.4.3.9. Descriptores

Son un conjunto de valores de valores numéricos que representan ciertas características de un objeto de una imagen (Rodriguez & Sossa, 2012). Entre los principales descriptores para caracterizar un objeto de una imagen son: área, perímetro,

compacidad, número de Euler, asimetría, entropía, curtosis, media, desviación estándar.

2.4.3.10. Área del objeto de una imagen

Se define como el número de pixeles contenido dentro de su contorno. Para calcular, la imagen previamente debe estar binarizada (Rodriguez & Sossa, 2012), es decir segmentada en *0 y 1* (ceros y unos), y luego se realiza el conteo de la cantidad de *1 (unos)* que tiene el objeto dentro de su contorno.

2.4.3.11. Perímetro de un objeto de una imagen

Es la longitud del contorno de un objeto de la imagen (Gonzalez, 2009). Se calcula sumando los valores de los pixeles de contorno de la imagen binarizada (Rodriguez & Sossa, 2012). Los pixeles de contorno están formados por pixeles cuyo valor de cada uno de ellos es *1* (uno).

2.4.3.12. Compacidad

Para calcular la compacidad se requiere de área del objeto y su perímetro. Se trata de un descriptor sin dimensión (por tanto insensible a los cambios de escala), donde es mínima para una región en forma circular (Rodriguez & Sossa, 2012). También es insensible a la orientación, con la excepción de los errores introducidos por la rotación.

C: Compacidad.
P: Perímetro.
A: Área.

$$C = \frac{P^2}{4\pi A}$$

2.4.3.13. Número de Euler

Es una propiedad topológica que se calcula mediante la diferencia entre el número de componentes conexas y el número de huecos (Gonzalez, 2009). Una componente conexa de una imagen es un área de un objeto, tal que cualquier par de puntos de la misma se une por una curva conexa trazada completamente dentro del área respectiva que está constituida por *1* (unos) en la imagen binarizada. Los huecos son las áreas dentro del objeto que esta constituidas por *0* (ceros).

E: es el número de Euler.
C: es el número de componentes conexas.
H: es el número de huecos.

$E = C - H$

2.4.3.14. Asimetría

Determina el grado de simetría de la distribución de la información de un histograma, sin generar el gráfico (Suárez & Tapia, 2012), respecto del valor central que es la media $\bar{x}$ es decir, si la minoría de datos o sesgo se encuentra hacia la izquierda entonces el valor de la asimetría será negativa, luego la moda $M_o > \bar{x}$. Si se encuentra en el centro la asimetría será cero, es decir simétrica, luego, $M_o = \bar{x}$ y si está hacia la derecha será positiva, entonces $M_o < \bar{x}$. Para el cálculo de la asimetría se considera el valor de la diferencia entre la media y la moda entre la desviación estándar. Donde la moda es el valor de mayor frecuencia absoluta del histograma y la media es el promedio de todas las muestras de la imagen del histograma. Y la desviación estándar es la raíz cuadrada de la varianza, donde la varianza es la media de las diferencias al cuadrado de cada pixel y la media.

Si:

$\bar{x}$: Media de los pixeles de la imagen en niveles de grises.

M_o: Moda del histograma de la imagen.

s: Desviación estándar.

A_p: Asimetría o Coeficiente de Asimetría de Pearson

$$A_p = \frac{\bar{x} - M_o}{s}$$

2.4.3.15. Curtosis

Mediante la Curtosis se determina que el histograma de la imagen alrededor del valor central con un gran apuntamiento o aplanado (Suárez & Tapia, 2012). En el caso intermedio se trata de una distribución normal o en forma de campana de Gauss. La curtosis está en función del momento de orden 4 entre la desviación estándar elevado a la cuarta.

Si:

$\bar{x}$: Media de los pixeles de la imagen en niveles de grises.

r: Valor de un pixel de la imagen.

m_4: Momento de orden 4

s: Desviación estándar

N: Número de pixeles de la imagen.

C_o: Curtosis

$$m_4 = \frac{\sum_{i=1}^{k}(r-\bar{x})^4}{N}$$

$$C_o = \frac{m_4}{s^4}$$

2.4.3.16. Entropía

Indica la mayor o menor cantidad de valores de niveles de gris en la imagen, a mayor entropía más niveles de gris presenta la imagen es menos segmentable (Platero, 2009), y a menor entropía más niveles de gris presenta la imagen es más segmentable.

Si:

r: representa un nivel de gris de un pixel.

L: representa el número de niveles de gris con el que se puede representar la imagen.

n_k: representa la cantidad de pixeles del nivel correspondiente a r_k.

Dónde:

$$h_{(r)} = n_k$$

h(r): representa el histograma.

n: representa el número de pixeles de la imagen.

$p_{(r)}$: representa la probabilidad de ocurrencia del nivel correspondiente *r*.

$$p_{(r)} = \frac{n_k}{n}$$

e: representa la entropía.

$$e = -\sum_{r=1}^{N} p_{(r)} \log_2(p_{(r)})$$

La entropía nos indica que a mayor valor mayor el número de códigos que representan los niveles de grises, término muy usado en teoría de la información.

2.4.3.17. Media

Indica la estimación más representativa del nivel de gris de la textura en la imagen (Bustos, 2009).

Dónde:

r: representa un nivel de gris de un pixel.

$p_{(r)}$: representa la probabilidad de ocurrencia del nivel correspondiente *r*.

μ: Es la media de la muestras de la imagen en niveles de gris.

$$\mu = \sum_{r=1}^{N} n_k p_{(r)}$$

2.4.3.18. Desviación Estándar

Es la medida del contraste medio o dispersión de los niveles de gris de la imagen respecto a μ (Bustos, 2009).

Dónde:

r: representa un nivel de gris de un pixel.

μ: Es la media de la muestras de la imagen en niveles de gris.

$p_{(r)}$: representa la probabilidad de ocurrencia del nivel correspondiente *r*.

σ^2: Desviación estándar

$$\sigma^2 = \sum_{r=1}^{N} (r - \mu)^2 p_{(r)}$$

2.4.3.19. Operaciones morfológicas de la imagen

Se emplea la morfología en el contexto de la morfología matemática como una herramienta para extraer componentes de una imagen que sean útiles en la representación de un objeto de una imagen (Gonzalez, 2009). La morfología matemática está basada en la teoría de conjuntos, que brinda un método para abordar problemas de procesamiento de imágenes. Las imágenes a las que se aplica este método son las imágenes binarias.

2.4.3.20. Definiciones básicas

Algunas definiciones básicas son necesarias para abordar las operaciones morfológicas (Gonzalez, 2009).

Si A y B son imágenes representados como conjuntos de z^2, con componentes:

$a = (a_1, a_2)$ y $b = (b_1, b_2)$, respectivamente.

La traslación de A por $x = (x_1, x_2)$, se representa como $(A)_x$, se define como:

$(A)_x = \{x/x = a + x,\ para\ a\ \in A\}$ A

La reflexión de B, representada por $\hat{B}$, se define como:

$\hat{B} = \{x/x = -b,\ para\ b\ \in B\}$

El complemento del conjunto A es:

$A^c = \{x/x\ \notin A\}$

Finalmente la diferencia de dos conjuntos A y B, representada por $A - B$, se define como:

$A - B = \{x/x\ \in A, x \notin B\} = A \cap B^c$

2.4.3.21. Operaciones con imágenes binarias

2.4.3.22. Dilatación

Expande el contorno del objeto de una imagen binarizada aumentando el área del objeto (Gonzalez, 2009).

$$A \oplus B = \left\{x \ / \ (\hat{B})_x \cap A \neq \emptyset\right\}$$

2.4.3.23. Diferencia

Conjunto de pixeles que pertenecen a A que no pertenecen a B (Gonzalez, 2009).

$$A - B = \{x / x \in A, x \notin B\} = A \cap B^c$$

2.4.3.24. Erosión

Contrae el contorno del objeto de una imagen (Gonzalez, 2009).

$$A \ominus B = \{x \ / \ (B)_x \subseteq A\}$$

2.4.3.25. Apertura

Suaviza contornos, rompe istmos estrechos y eliminar pequeñas islas y picos agudos (Gonzalez, 2009).

$$A \circ B = (A \ominus B) \oplus$$

2.4.3.26. Cierre

Suaviza contornos, fusiona interrupciones estrechas y entrantes largos y estrechos, y elimina pequeños huecos (Gonzalez, 2009).

$$A \cdot B = (A \oplus B) \ominus B$$

2.4.4. Procesamiento de nivel alto

Se realiza el análisis de los objetos de la imagen en base a los descriptores de la imagen, es decir los parámetros de cada objeto de la imagen (Gonzalez, 2009). Los descriptores constituyen las entradas de los clasificadores que permiten clasificar los objetos de las imágenes según ciertas características preestablecidas, entre los clasificadores más conocidos se encuentran las redes neuronales (Brio, 2007) y Transformada de Hough (detección de rectas y detección de círculos). Este nivel de procesamiento está orientado hacia el reconocimiento de patrones, simulando funciones cognitivas.

2.4.5. Redes Neuronales Artificiales

Las redes neuronales artificiales (RNA) son modelos, que intentan reproducir el comportamiento del cerebro, referente a su arquitectura y funcionamiento (Ponce, 2010) (Kriesel, 2016). Las RNA están compuestas por neuronas artificiales, trabajando al mismo tiempo para la solución de problemas específicos. Cada neurona artificial está conectada unas a otras.

El estudio de las Redes Neuronales Artificiales forma parte del campo de la Inteligencia Artificial (Ponce, 2010). Para la implementación de las redes artificiales existen muchas metodologías, las que de acuerdo a tipo de aplicación se implementan entre las que podemos mencionar:

Back Propagation, Perceptrón Multicapas, Redes Kohonen, Hopfield, y otros (Kriesel, 2016).

Una neurona artificial constituye el elemento fundamental para la construcción de redes neuronales artificiales. Una neurona artificial, está inspirada en el modelo y las características más importantes de la neurona biológica (Brio, 2007).

La neurona artificial es una unidad de procesamiento constituido por el núcleo, uno o varias entradas y una salida (Ponce, 2010). Las entradas representan señales que provienen de otras neuronas, el núcleo es el encargado de proporcionar un valor de salida basado en una función umbral que la neurona debe sobrepasar para activarse. La salida normalmente se conecta a otras neuronas.

Algunos elementos de la neurona artificial son los siguientes:

- Entradas analógicas: X_i
- Pesos: W_i
- f(Net): Debe sobrepasar un nivel de umbral preestablecido para activarse.

En la siguiente Figura 41, se puede observar los elementos antes mencionados:

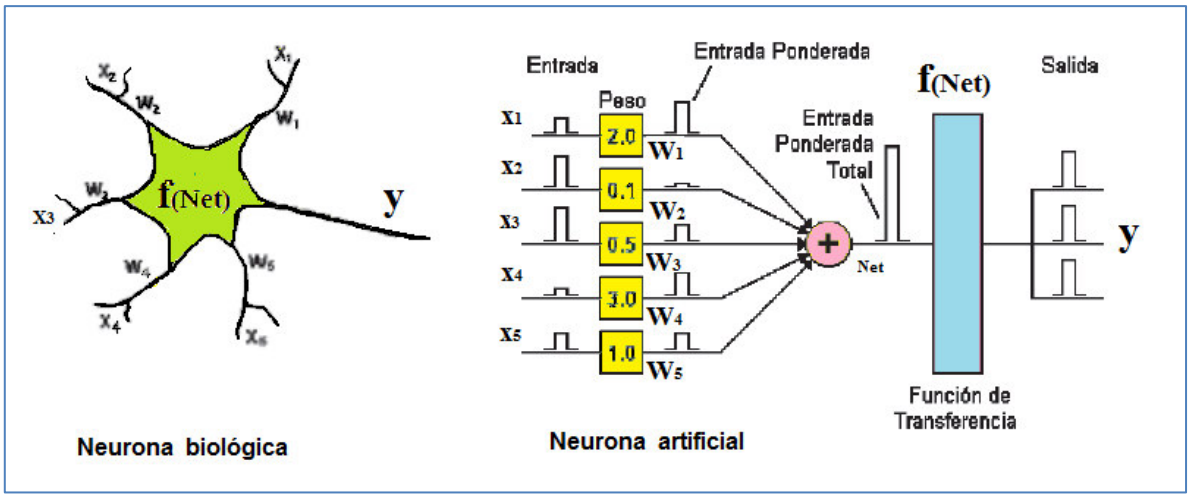


Figura 41. **Elementos de una red neuronal artificial.**
Fuente. (Ochoa M. , 2006).

Los pesos W_i son positivos o negativos, el nodo que suma acumula todas las señales de entrada multiplicadas por los pesos y la pasa a la salida a través de una función de transferencia denominada también función umbral (Bernal, et al, 2000) (Kriesel, 2016). La entrada Net_i a cada unidad puede escribirse de la siguiente manera:

$$Net_i = \sum_{i=1}^{n} W_i X_i$$

Una vez que se ha activado el nodo el valor de la salida equivale a;

$$y_i = f_i(Net_i)$$

La función f_i representa la función de actividad para esa unidad, que corresponde a la función escogida para transformar la entrada Net_i en el valor de salida y_i, que depende de las características de la red.

La red de neuronas artificiales, se encuentran agrupadas por capas, donde una capa es un conjunto de neuronas que de acuerdo a su ubicación se denominan capas (Hilera & Martínez, 2000) (Kriesel, 2016). Se clasifican en:

- Capa de entrada,
- Capas ocultas
- Capa de salida.

La capa de entrada, recibe las señales de entrada de la red; la capa oculta, determinan las diferentes topologías de la red y la capa de salida, recibe la información de la capa oculta y la transmite al medio externo.

El estado de activación es un valor asignado en $\mathbf{y_i}$ de la neurona artificial y referida según la función de activación que resultara en un valor 1 o 0, es decir activado o inhibido (Hilera & Martínez, 2000) (Jorge, 2001).

La función de transferencia es la función f_i que corresponde a la función escogida para transformar la entrada Net_i en el valor de salida y_i, que depende de las características de la red (Bernal, et al, 2000) (Kriesel, 2016).

La regla de aprendizaje, es el proceso mediante el cual una red neuronal modifica sus pesos en respuesta a una información de entrada, es decir, el patrón de referencia, dando como resultado nuevos modelos de respuesta frente a estímulos externos o información a ser evaluada (Hilera & Martínez, 2000) (Kriesel, 2016).

Las redes neuronales artificiales presentan las siguientes características:

- Topología de la red (monocapa y multicapa).

- Mecanismo de aprendizaje (supervisado y no supervisado).

- Asociación de la entrada y salida (heteroasociativa y autoasociativa).

- Forma de representación de la información de entrada y salida (forma de vector).

En la topología se debe considerar dos aspectos: el número de capas y el número de neuronas en cada capa: Redes Monocapa y Redes Multicapa (Jorge, 2001).

Redes Monocapa, donde las entradas están directamente conectadas a la capa de salida y algunas veces presentan conexiones entre neuronas de la misma capa y autorecurrentes (Hilera & Martínez, 2000) (Bernal, Bobadilla, & Gómez, 2000).

Redes Multicapa, donde existe una capa de entrada, una o varias ocultas y una capa de salida (Hilera & Martínez, 2000). Respecto al número de capas, se debe considerar una capa de entrada, una capa de salida y como mínimo una capa oculta, aunque no existe un criterio riguroso para determinar la cantidad de capas ocultas. Existen algunos criterios que se consideran como el teorema de Kolgomorov (Ponce, 2010), que señala que una sola función continúa de transferencia puede ser aproximada por una capa oculta, más capas hacen más lento procesar la información, y a veces se obtienen mejores resultados. Las conexiones pueden ser tipo hacia adelante (feedforward) o tipo hacia atrás (feedback), en la que las salidas de la neuronas posteriores están

conectadas hacia las entradas de las capas anteriores (Hilera & Martínez, 2000).

Sin embargo para aquellas aplicaciones que requieren un gran número de entradas, el tiempo de procesamiento se incrementa. Las redes neuronales se usan en aplicaciones como es el reconocimiento de patrones, para identificar objetos en una imagen (Bustos, 2009).

El mecanismo de aprendizaje, está referido por la regla de aprendizaje, es decir, la modificación de los pesos en función de la información de entrada (Bernal, et al, 2000). Durante este proceso los pesos de las conexiones de la red se modifican, cuando estos permanecen estables quiere decir que la red aprendió (Ochoa, 2015). El mecanismo de aprendizaje puede ser supervisado o no supervisado, significa proveer a la red de la salida deseada, es decir dándole a la red los resultados esperados en su salida.

En el mecanismo no supervisado, la red es provista de los datos de entrada, pero no los datos de salida (salida deseada), en este caso el sistema debe decidir qué características usar para agrupar los datos de entrada, obteniendo en la salida una clasificación por categorías (Bustos, 2009) (Hilera & Martínez, 2000).

El tipo de asociación realizada entre la información de entrada y salida, se refiere a los datos que la red aprende, y asocia las entradas con una salida correspondiente (Bustos, 2009) (Kriesel, 2016). Según lo cual, existe dos formas de asociación: Heteroasociación y Autoasociación. La Heteroasociación, se presenta cuando a una entrada le corresponde una salida. Autoasociación, la red aprende ciertas informaciones de la entrada, de tal manera que cuando se le presenta la información de entrada, realizará una auto correlación, respondiendo con uno de los datos almacenados, el más parecido al dato de entrada (Bustos, 2009) (Kriesel, 2016).

La forma de representación de la información de entrada y salida de una red neuronal artificial pueden de dos maneras: continuos y discretos (Bustos, 2009) (Kriesel, 2016). Si los datos de entrada son continuos, las funciones de activación de las neuronas son continuas, es decir, son de tipo lineal o sigmoidal. Si los datos de entrada son valores discretos, entonces la función de activación es de tipo escalón (Bustos, 2009). También existen redes híbridas, donde las entradas son continuas y las salidas discretas.

En general, para cualquier red neuronal artificial utilizada es necesario considerar algunos aspectos como la velocidad en cuanto al tiempo de aprendizaje de la red, el tipo de aprendizaje utilizado, factor de aprendizaje y numero de neuronas por capa (Bustos, 2009) (Kriesel, 2016).

2.4.6. Modelo de Red Backpropagation (Regla delta generalizada)

Se trata de una red Multicapa Perceptrón en la cual se emplea un mecanismo de aprendizaje supervisado basado en un algoritmo de Backpropagation (Flórez & Fernández, 2008) (Bernal, et al, 2000). El cual, consiste en el aprendizaje de un conjunto predefinido de patrones de entrada y salida esperada con dos fases esperadas de acuerdo a la Figura 42.

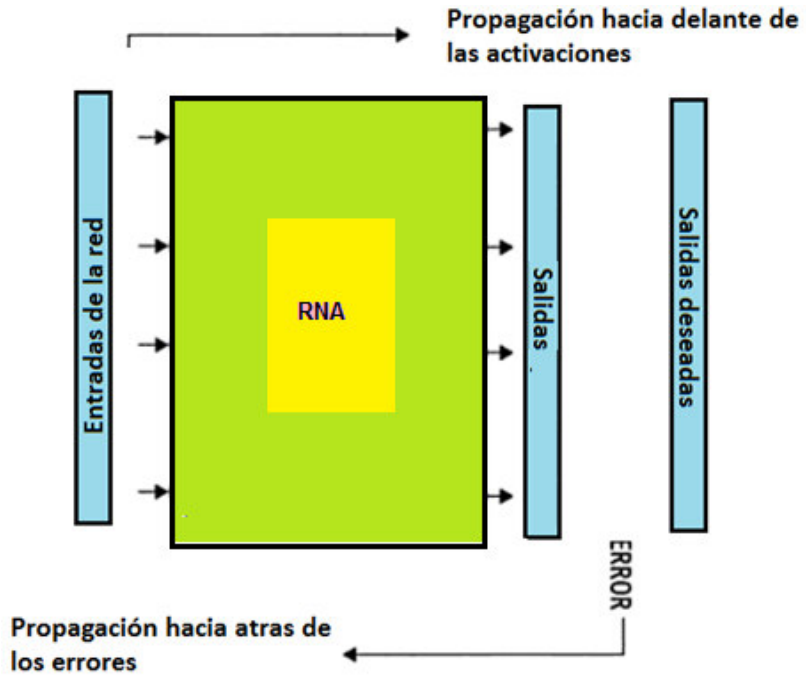


Figura 42. **Modelo de Backpropagation.**
Fuente. Elaboración propia.

Las fases dos fases son:

- Fase de aprendizaje "hacia adelante", en el que los patrones de entrada que se presenta a la primera capa, cuyo estimulo se propaga a través de todas las capas de la red hasta capa de salida. En esta fase los pesos se inicializan con valores cercanos a "0" (Flórez & Fernández, 2008).

- Fase de aprendizaje "hacia atrás", que comienza con la comparación de la salida generada por la red y la salida deseada, se calcula un valor de error para cada neurona de la última de capa de la red (Haykin, 2009) (Hilera & Martínez, 2000). Estos errores se transmiten desde la capa de salida hacia las neuronas de la capa intermedia que se conectan directamente con la capa de salida, y que reciben una parte error aproximado a su participación en la salida

en la salida original. El proceso se repite capa por capa hasta capa de entrada y todas las neuronas de la red hayan recibido un error que describa su aportación relativa a la salida final (Flórez & Fernández, 2008). A partir del valor de error recibido, se procede al reajuste de los pesos de cada neurona para minimizar error cometido por la red en el futuro.

De esta forma se termina con la etapa de aprendizaje y se inicia el modo de operación. Si el aprendizaje ha sido eficaz, la red debe generar una salida próxima a la deseada ante la presencia de una nueva entrada desconocida (Flórez & Fernández, 2008) (Haykin, 2009). Si se considera una red Perceptrón de tres capas representando en la Figura 43.

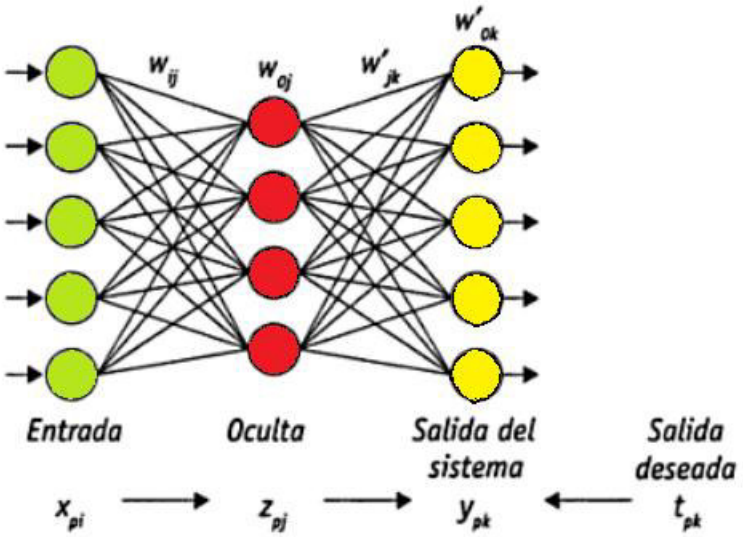


Figura 43. **Red Perceptrón.**
Fuente. http://sobre-inteligencia-artificial.blogspot.pe/2013/06/redes-neuronales-artificiales-en-el.html.

- z_{pj} la salida de la neurona oculta j-ésima (j=1,…,J) ante la presentación de la entrada p.
- y_{pk} el componente k-ésimo (k= 1….Ni) de la salida de la red para el patrón p-ésimo.
- w'_{ij} el peso asociado a la conexión entre la neurona i-ésima de la capa de entrada y la neurona j-ésima de la capa oculta;
- w'_{jk} el peso asociado a la conexión entre la neurona j-ésima de la capa oculta y la neurona k-ésima de la capa de salida;
- t_k^p la salida deseada para la neurona k-ésima de la capa oculta;
- w_{0j} y w'_{0k} los umbrales de las neuronas de la j-ésima neurona oculta y la k-ésima neurona de salida, respectivamente.

La salida final generada por la red adopta la expresión:

$$y_{pk} = \sum_{j=1}^{J} w'_{jk}\, z_{pj} - w'_{jk} f\left(\sum_{i=0}^{N_0} w'_{ij}\, x_{pi}\right) - w'_{0k}$$

Las funciones de activación de las neuronas ocultas f(Neti) pueden adoptar distintas formas, si bien es necesario que sean continuas, no decrecientes y derivables en todos sus puntos, por lo que resulta habitual el empleo de funciones de tipo sigmoideo:

$$f(x) = \frac{1}{1 + e^{-x}}$$

O también:

$$f(x) = \frac{e^{x} - e^{-x}}{e^{x} + e^{-x}} = \tanh(x)$$

La función del error a minimizar puede definirse de distintas maneras si bien en la práctica suele considerarse el error cuadrático medio para simplificar los cálculos:

$$E(w) = \frac{1}{2}\sum_{p=1}^{P}\sum_{k=1}^{N_i}\left[t_{pk} - f(\sum_{j=0}^{J} w'_{jk}\, z_{pj})\right]^2$$

El proceso de minimización se lleva a cabo mediante el descenso del gradiente, existiendo un gradiente respecto de los pesos de la capa de salida y otro respecto de los pesos de la capa oculta (Flórez & Fernández, 2008) (Haykin, 2009). Las expresiones finales de actualización de los pesos se obtienen mediante el cómputo de la primera derivada de la función error respecto a cada conjunto de pesos, aplicando la conocida "regla de la cadena":

$$\Delta w'_{jk} = -\mu \sum_{p=1}^{P} \delta'_{pk}\, z_{pj}, \text{donde } \delta'_{pk} = -\frac{\partial E(w)}{\partial f(Net_k)} \cdot \frac{\partial f(Net_k)}{\partial Net_k}$$

(pesos capa oculta-salida)

$$\Delta w'_{ij} = -\mu \cdot \delta_{pj} z_{pj}, \text{con } \delta_{pj} = -\left(\sum_{k=1}^{N_i} \frac{\partial E(w)}{\partial f(Net_k)} \cdot \frac{\partial f(Net_k)}{\partial Net_k} \cdot w'_{jk}\right) \frac{\partial f(Net_j)}{\partial Net_j}$$ (pesos capa entrada-oculta)

Si se considera la función de error cuadrático medio:

$$\frac{\partial E(w)}{\partial f(Net_k)} = -(t_{pk} - y_{pk})$$

Así como la función de activación sigmoidea:

$$\frac{\partial \mathrm{f}(\mathrm{Net_k})}{\partial \mathrm{Net_k}} = \partial \mathrm{f}(\mathrm{Net_k}) \cdot \left(1 - \mathrm{f}(\mathrm{Net_k})\right),$$

La actualización de los pesos se simplifica, tanto respecto a la actualización por patrón:

- $\Delta w'_{jk} = \mu(t_{pk} - y_{pk}) \cdot y_{pk} \cdot (1 - y_{pk}) \cdot z_{pj}$, Pesos capa oculta-salida.
- $\Delta w'_{ij} = \mu \sum_{k=1}^{N_i} (\delta_{pk}\, w'_{jk}).\, z_{pj}.\left(1 - z_{pj}\right).\, x_{pi}$, Pesos capa entrada-oculta

Para la actualización por tramos:

- $\Delta w'_{jk} = \mu \sum_{p=1}^{P} (t_{pk} - y_{pk}).\, y_{pk}.\left(1 - y_{pk}\right).\, z_{pj}$ Pesos capa oculta-salida

μ es el factor de aprendizaje y regula la velocidad de aprendizaje.

El algoritmo de propagación Backpropagation (Bernal, et al, 2000) (Hagan & Demuth, 2014) se puede sintetizar de la siguiente manera:

- **Paso 1:** Inicializar los pesos con los valores aleatorios pequeños.

- **Paso2:** Tomar un patrón de entrada a escogido aleatoriamente.

- **Paso3:** Propagar la señal hacia delante a través de toda la red.

- **Paso4:** Calcular los errores que se producen en la capa de salida.

- **Paso5:** Calcular los errores pertenecientes a la capa anterior.

- **Paso6:** Volver al paso 5 hasta que se alcance la capa de entrada.

Para actualizar los pesos:

Retornar al paso 2 hasta que el error en la capa de salida sea menor que un umbral establecido o hasta que se haya alcanzado un número fijado de iteraciones.

2.4.7. Transformada de Hough

El algoritmo permite detectar formas geométricas simples en una imagen (Platero, 2009). En su procesamiento emplea el conjunto total de la imagen, haciéndolo robusto ante la presencia de ruido y discontinuidades. Para su ejecución requiere de una imagen binarizada, es decir que presenta dos niveles de gris, el blanco y el negro, en la que se ha seleccionado previamente los bordes. La transformada de Hough intentará, extraer formas geométricas del más alto nivel como son líneas, circunferencias, elipses o cualquier tipo de curva paramétrizada o no. El mayor inconveniente es su alto consumo de procesamiento (Platero, 2009).

2.4.7.1. Detección de líneas rectas

Considerando los puntos (pixeles) de coordenadas (xi,yi) y (xj,yj), seleccionados como elementos que representan dos

puntos de una recta (Platero, 2009), (UNQ, 2016), como se muestra en la Figura 44.

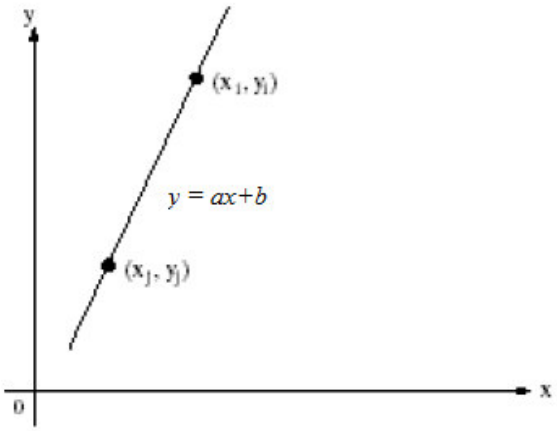


Figura 44. **Representación de una recta.**
Fuente. Elaboración propia.

Representada por la ecuación:

$$y_i = a'x_i + b'$$

Luego en el espacio paramétrico o plano ab es representado según la Figura 45 de los puntos (xi,yi) y (xj,yj) que representan rectas (UNQ, 2016).

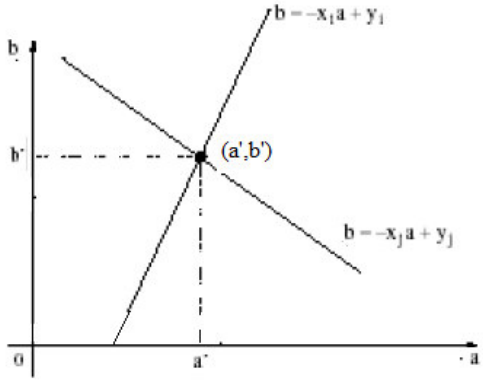


Figura 45. **Intersección de dos rectas.**
Fuente. Elaboración propia.

Donde cada recta en el plano paramétrico ab es representado mediante la siguiente ecuación de la recta:

$$b = y_i - ax_i$$

Entonces, si dos pixeles que pertenecen a una misma línea son representados en el espacio paramétrico, la recta del plano xy está definido por la intersección de las dos rectas del espacio paramétrico es decir el punto (a',b'), donde a' es la pendiente a' y b' es la intersección con la ordenada (UNQ, 2016). La transformada de Hough aplica este concepto para la localización de las líneas rectas en la imagen. Discretiza el espacio paramétrico en intervalos de [amin amax] y [bmin bmax] como se muestra en la Figura 46, creando una rejilllas de celdas de acumulación (Acumulador). Por cada pixel, considerado como borde o recta de la imagen binarizada, se hace recorrer el rango dinámico de "a" obteniendo los valores de "**b**". Por cada valor de "**a**" y "**b**" se le pone un voto en la celda correspondiente (UNQ, 2016). Esta operación se realiza con todos los pixeles etiquetados como bordes de la imagen procesada. Al finalizar, aquellas celdas con más votos indicaran la presencia de rectas en la imagen, cuyos modelos corresponderán con las coordenadas de la celda. Sin embargo el espacio paramétrico no es el más correcto, ya que los rangos dinámicos de **a** y **b** no son limitados (UNQ, 2016).

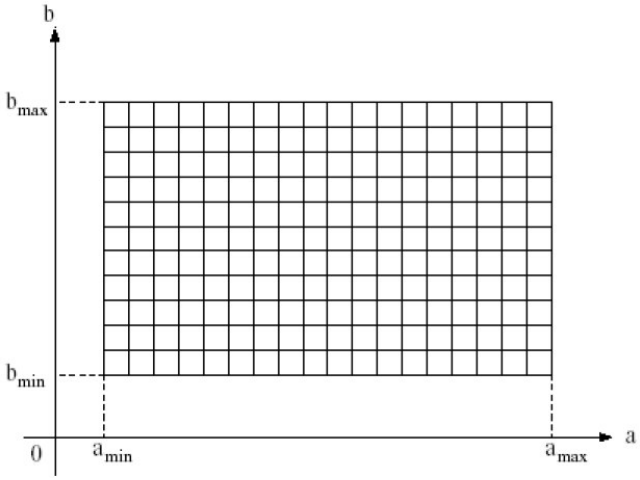


Figura 46. **Espacio paramétrico.**
Fuente. Elaboración propia.

En cambio, si se efectúa una representación en coordenadas polares, el ángulo de la normal de la recta, θ, está limitado al rango de [0 π], mientras la distancia de proyección, ρ, está acotada por el tamaño de la imagen. La representación de la recta en base a los parámetros (ρ,θ) es:

$$x_i \cos\theta + y_i \sin\theta = \rho$$

La representación gráfica será mediante la Figura 47:

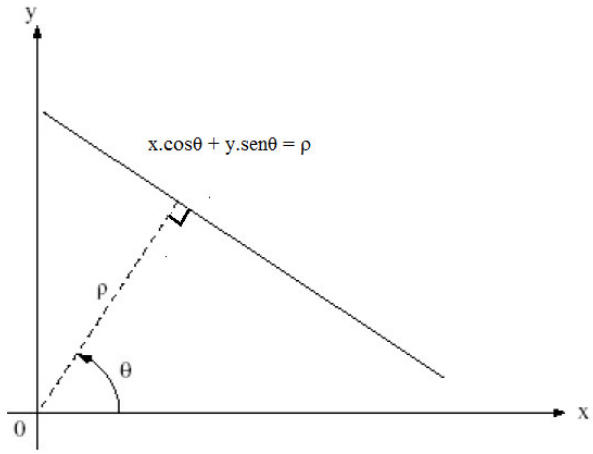


Figura 47. **Coordenadas polares.**
Fuente. Elaboración propia.

La representación de un pixel seleccionado del plano xy en este espacio paramétrico le corresponde una sinusoide en el plano ρθ en lugar de una recta. Entonces M puntos colineales en el plano xy le corresponden, darán lugar a M sinusoides que se cortan en un punto (ρi,θi) en el espacio paramétrico (UNQ, 2016). En la siguiente Figura 48 se presenta el plano ρθ con las rejillas correspondientes.

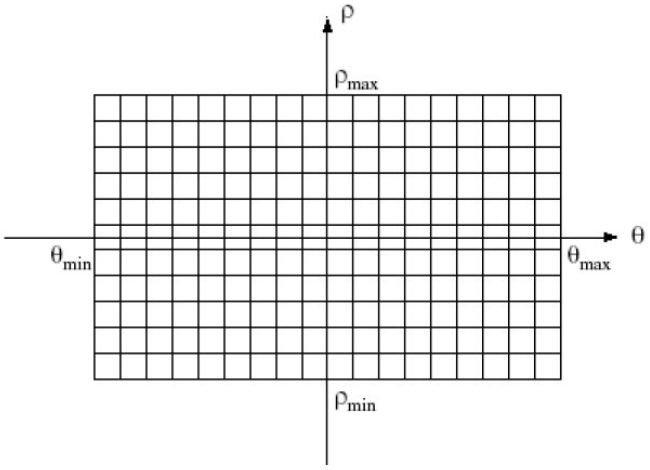


Figura 48. **Plano de la transformada de Hough.**
Fuente. Elaboración propia.

El rango de valores para el ángulo θ es ±90º, medido con respecto al eje de las abscisas. Se permiten valores negativos de ρ para rectas por detrás del origen de coordenadas del plano xy. Por ejemplo dos rectas que son las diagonales de un cuadrado como se muestra en la Figura 49 las cuales son detectadas (UNQ, 2016).

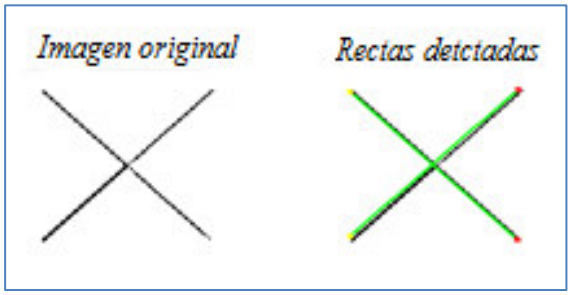


Figura 49 **.Detección de rectas.**
Fuente. Elaboración propia.

Luego, en la Figura 50 podemos observarlas en el plano ρθ, donde ρ1=0, ρ2=100, θ1=45º y, θ2=-45º,, respectivamente para ambas rectas y luego la gran cantidad de senoidales que se cortan respectivamente en dos puntos brillantes.

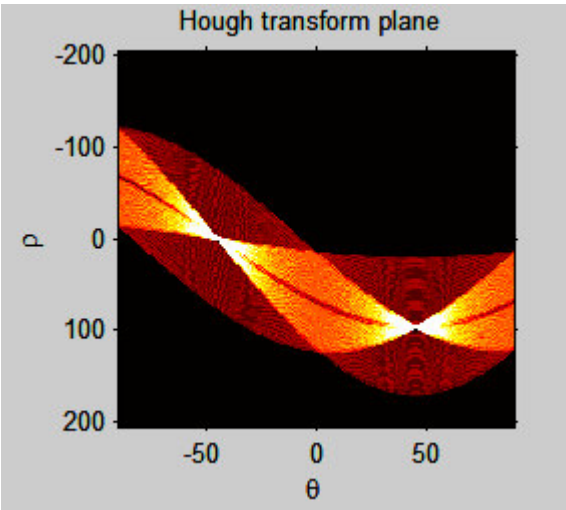


Figura 50. **Representación de dos rectas en el plano de la Transformada de Hough mediante dos puntos.**
Fuente. Elaboración propia.

2.4.7.2. Detección de círculos

Para este caso, el espacio paramétrico será en tres dimensiones (3D), correspondiente a la posición del centro del círculo, (xo,yo), y al radio, r (Platero C. , 2009), (Cuevas, et al, 2010).

$$(x_i - x_o)^2 + (y_i - y_o)^2 = r^2$$

Las votaciones de cada celda del espacio paramétrico se realizará variando la posición del centro del círculo, (xo,yo,r), para cada pixel etiquetado, (xi,yi), obteniendo los distinto valores del radio, r (Platero, 2009) (Cuevas, et al, 2010). Por tanto, se depositarán los votos, en la rejilla de acumulación de acuerdo a las coordenadas correspondientes al centro del círculo y el radio calculado. Los círculos seleccionados serán aquellos que superen un cierto umbral de votos recibidos (Platero, 2009) (Cuevas, et al, 2010). El mayor inconveniente es su procesamiento computacional. Una forma de ahorro en el cálculo es prefijar el valor del radio del círculo o limitarlo a un valor máximo. Si se conoce el radio, junto con la información de la orientación del gradiente del píxel etiquetado, **(x_i,y_i)**, las posibles coordenadas del centro del círculo darán una nube de puntos limitados se muestra en dos dimensiones solo considerando los centros porque el radio es constante. En la siguiente Figura 51 se ilustra el proceso descrito anteriormente.

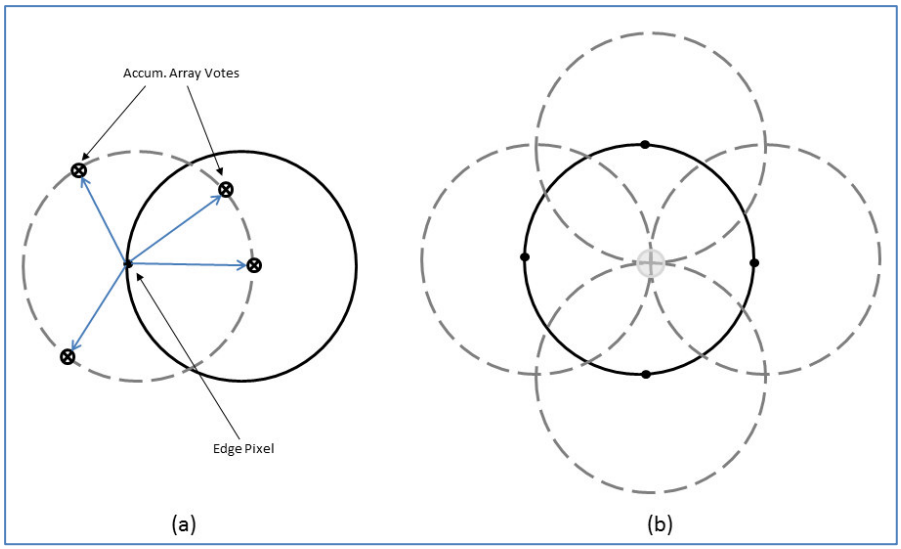


Figura 51. **Detección de círculos.**
Fuente. Matwork.

La ventaja de esta detección de círculos proviene de las características inherentes de la transformada de Hough, la inmunidad al ruido que es capaz de detectar círculos, aunque exista oclusión del mismo. Por otro lado, en este tipo de curvas, al ser cerradas, no hay problemas del carácter infinito de las líneas rectas (Platero, 2009) (Cuevas, et al, 2010). Los círculos están definidos en la imagen, sin ninguna expansión. En la Figura 52 se observa la imagen de monedas para ser detectados en el lado izquierdo y en el lado derecho se observa los círculos detectados indicando sus coordenadas respectivas.

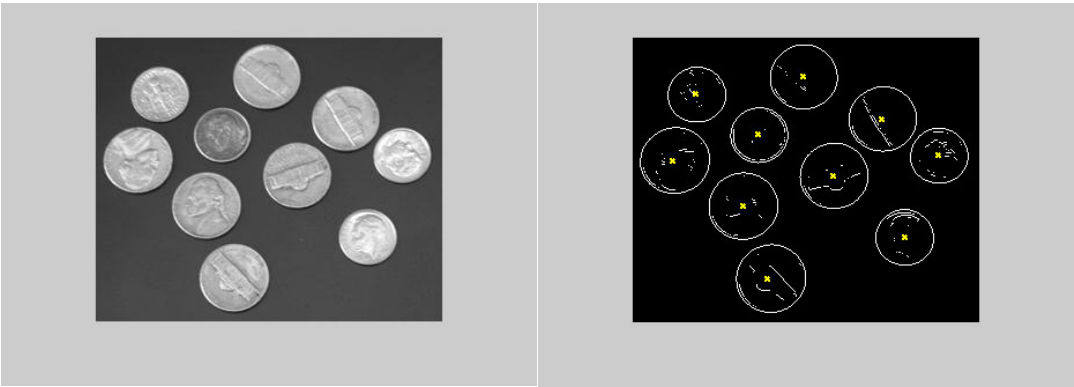


Figura 52. **Círculos detectados con centros indicados.**
Fuente. Elaboración propia.

En la siguiente Figura 53 se observa el proceso de detección de los círculos realizada por el algoritmo para detectar las monedas.

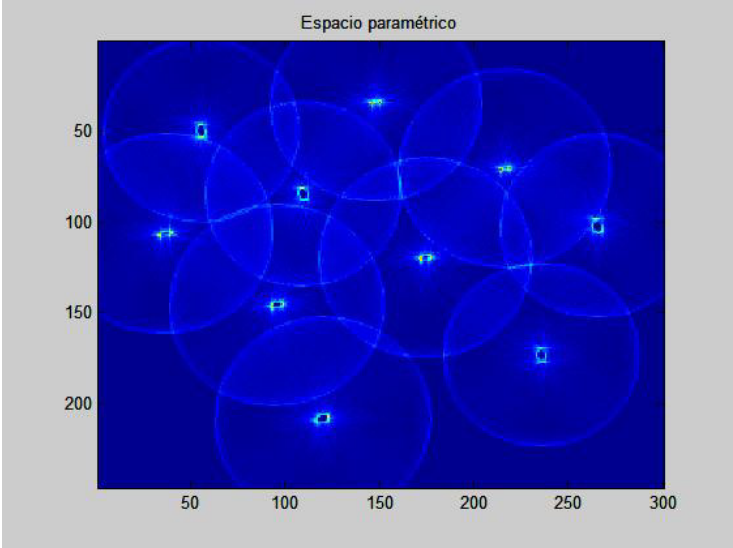


Figura 53. **Círculos detectados en el espacio paramétrico.**
Fuente. Elaboración propia.

CAPITULO 3: METODOLOGÍA

En el presente capítulo se trata acerca de la metodología de investigación, una vez definidos, la situación problemática, la formulación del problema, justificación, los objetivos en el capítulo 1 y el marco teórico en el capítulo 2. En el presente capítulo se definen las hipótesis, el tipo y diseño de la investigación, variables, operacionalización, unidad de investigación, población, muestras e instrumentos de recolección y análisis de datos (Hernández, Fernández, & Baptista, 2014).

3.1. Hipótesis de la investigación

3.1.1. Hipótesis general

El diseño de un algoritmo para el conteo de células sanguíneas usando técnicas de procesamiento digital de imágenes permitirá reducir el costo y tiempo de conteo de células de tejido sanguíneo a partir de las imágenes captadas, lo que a su vez mejoraría la eficiencia en la utilización de recursos.

3.1.2. Hipótesis específicas

3.1.2.1 *La aplicación del procesamiento digital de imágenes basado en el algoritmo de Redes Neuronales Artificiales permitirá realizar el conteo diferenciado de glóbulos blancos en menor tiempo que el proceso manual de conteo.*

3.1.2.2 *El tiempo de conteo diferenciado de glóbulos blancos usando el algoritmo propuesto en esta investigación será menor que usando el algoritmo de Redes Neuronales Artificiales, ambos aplicados en el procesamiento digital de imágenes.*

3.1.1.3 *El tiempo de conteo diferenciado de glóbulos blancos mediante el PDI basado en el algoritmo diseñado propuesto en la presente investigación será menor que el conteo diferenciado mediante el proceso manual*

3.1.2.4 *La tasa de error de conteo de glóbulos rojos usando el algoritmo de procesamiento digital de imágenes propuesto en esta investigación no superará el 5%.*

3.2. Tipo y diseño de la investigación

La investigación es de metodología cuantitativa y tipo experimental. Es cuantitativa, porque con los instrumentos propuestos se obtienen valores cuantificados correspondientes a las variables, las que se emplearan para el análisis estadístico (Palella & Martins, 2012). Es decir el conocimiento está basado en hechos concretos.

La investigación cuantitativa tipo experimental, se caracteriza por que trata de operar una o más variables independientes (supuestas causas), para analizar las consecuencias de esa operación sobre una o más variables dependientes (supuestos efectos), dentro de una situación de control para el investigador (Briones, 1996). En este tipo de diseño, el investigador tiene un rol activo, es decir no solo identifica las características de las variables sino, que las controla, las altera con el fin de observar los resultados.

El diseño aplicado en la investigación, es un diseño experimental con Grupo Control Postest, el esquema es el siguiente:

Ge:	X	O_1
Gc:	-	O_2

Donde:

Ge: Grupo experimental
Gc: Grupo control
X: Algoritmo diseñado
$O_{1:}$ Tiempo de conteo (proceso con algoritmo), Error de conteo
O2: Tiempo de conteo (proceso manual)

En la presente investigación, el sistema de procesamiento de digital de imágenes implementado para el conteo de células sanguíneas, consiste en captar las imágenes de las células mediante un microscopio con cámara y luego es transmitida a la computadora donde es procesada analizada, mediante el algoritmo de conteo diseñado para identificar, clasificar y contar las células.

Considerando lo mencionado anteriormente, para el diseño de la investigación es necesario, realizar la identificación de las variables que intervienen y como operan en el proceso mencionado, considerando las hipótesis planteadas. A continuación se identifican las variables que intervienen en el proceso, el cual es detallado en el Capítulo 4.

3.3. Identificación de variables

A continuación se presentan las variables de acuerdo a las hipótesis planteadas, ver Cuadro 1.

Cuadro 1. **Identificación de variables**

Hipótesis	Variables independientes	Variables Dependientes
General:	– Imágenes de las muestras de tejido sanguíneo. – Resolución de imágenes del captador de imágenes. – Profundidad de la Imagen. – Capacidad de aumento del microscopio. – Reactivo usado en la muestra. – Nivel de iluminación – Algoritmo	– Tiempo de conteo de las células sanguíneas.
Específica 1	– Algoritmo.	– Tiempo de conteo de células
Específica 2	– Algoritmo.	– Tiempo de conteo de células
Específica 3	– Algoritmo.	– Tiempo de conteo de células
Específica 4	– Algoritmo.	– Error de conteo

Fuente: Elaboración propia

1

3.4. *Operacionalización de variables*

La operacionalización de variable se presenta en el Cuadro 2, donde se detalla cada aspecto conceptual y operacional, ver Cuadro 2.

Cuadro 2. **Operacionalización de variables**

Variables	Definición conceptual	Definición operacional
Imágenes de muestras de tejido sanguíneo	Son las imágenes capturadas por la cámara donde se encuentran las células sanguíneas.	Las células sanguíneas son contadas para medir el tiempo de conteo y la tasa de error
Resolución de imágenes del captador de imágenes.	Cantidad de pixeles que presenta una imagen,	Se mide n° pixeles de una fila x el n° pixeles, facilita los detalles de la imagen e influye en el tiempo de conteo de células.
Profundidad de la Imagen.	La cantidad con el que se puede representar un pixel.	Se mide por el número de bits por pixel, varia si se representa una imagen a color o en niveles de grises.
Capacidad de aumento del microscopio	Indica el incremento de tamaño de una imagen.	Se indica por un numero múltiplo de 10 seguido de una "x"
Reactivo usado en la muestra.	Sustancia que permite dispersar las células sanguíneas en la muestra.	Se toma dos valores o 100 o 200
Nivel de iluminación	Es la medida de la cantidad de luz visible emitida por una fuente.	Se mide en lumen, se toma en cuenta para iluminar la muestra en el microscopio.
Tiempo de conteo de las células sanguíneas	Es el tiempo en que se demora el proceso de conteo de células sanguíneas	Se mide en segundos y nos indica como varía en función del algoritmo.
Tasa error de conteo	Es el error relativo del proceso de conteo de células sanguíneas.	Se mide en porcentaje (%) está relacionada con el tipo de algoritmo que aplica en el proceso de conteo.
Algoritmo	Es un conjunto ordenado de operaciones para solucionar algo.	Se mide por número de líneas de instrucciones, e influye en el tiempo y la tasa de error.

Fuente: Elaboración propia

3.5. Unidad de investigación

El objeto de estudio de la presente investigación lo constituyen las imágenes del tejido sanguíneo.

3.6. Población

La población lo constituye el conjunto de todas las imágenes que se pueden obtener de una muestra de sangre de un individuo. El tamaño de la población es infinito. Las muestras serán tomadas en la Clínica Universitaria de la UNMSM, Instituto de Medicina Tropical y en un centro hospitalario de primer nivel como el Hospital María Auxiliadora.

3.7. Muestras

Se toman treinta muestras representativas mediante una selección aleatoria de imágenes de tejido sanguíneo considerando las variables dependientes e independientes que se han planteado. Para efectos del análisis estadístico se toman las muestras de tiempo de conteo y error porcentual.

3.8. Instrumentos de recolección de datos

Para el análisis de los resultados de la investigación tratado en el Capítulo 5, es necesario el software MATLAB, que se emplea tanto para la programación del algoritmo y realización de los respectivos programas descritos en el Capítulo 5, como procesar las imágenes, obtener los tiempos y errores porcentuales. Otros, instrumentos utilizados son un microscopio con una cámara incorporada y una computadora compatible conectada al microscopio para realizar el proceso y obtener los datos conjuntamente con el software MATLAB.

Es a través del programa desarrollado donde se implementa el algoritmo, lo que posibilita obtener la información necesaria para realizar el análisis de datos

3.9. Instrumentos de análisis de datos

El análisis de datos se efectúa mediante programas desarrollados en MATLAB cuyos Códigos de programas están en el Anexo 2, y también se emplearon: el aplicativo web StatKey, los programas SPSS, XLSTAT, que fueron empleados para la demostración de las hipótesis, los métodos T-Student y Wilcoxon que se observa en el Capítulo 5. Otra herramienta empleada es una computadora compatible y acceso a Internet. Las pruebas de hipótesis con XLSTAT se encuentran en las Figuras 144 al 147 en el Anexo 3. También se emplearon tablas presentadas en las Figuras 140-143 del Anexo 3.

3.10. Matriz de Consistencia

El esquema de la presente investigación se presenta en la

Cuadro 3. ***Matriz de consistencia***

PROBLEMAS	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	TECNICA DE RECOLECCIÓN
Principal: ¿Cómo influye el empleo del algoritmo diseñado de procesamiento digital de imágenes en el proceso de conteo de células sanguíneas con respecto al costo y tiempo en que se realiza el proceso manual del conteo de células?	**General**: Diseñar un algoritmo para el procesamiento digital de imágenes que permita mejorar el proceso de conteo de células sanguíneas con respecto al costo y tiempo en que este se realiza.	**Principal:** El diseño de un algoritmo para el conteo de células sanguíneas usando técnicas de procesamiento digital de imágenes permitirá reducir al costo y tiempo de conteo de células de tejido sanguíneo a partir de las imágenes captadas lo que a su vez mejoraría la eficiencia en la utilización de recursos.	**Variables Independientes :** – Imágenes de las muestras de tejido sanguíneo. – Resolución de imágenes del captador de imágenes. – Profundidad de la Imagen. – Capacidad de aumento del microscopio. – Reactivo usado en la muestra. – Nivel de iluminación – Algoritmo **Variables Dependientes:** – Tiempo de conteo de las células sanguíneas.	En todos los casos la técnica de recolección es mediante recopilación de información directa del proceso.
Secundarios: ¿Cuál es la relación con respecto al tiempo del conteo diferenciado de glóbulos blancos, entre el proceso de conteo mediante el procesamiento digital de imágenes basado en el algoritmo de Redes Neuronales Artificiales, y el proceso manual de conteo de células? ¿Cuál es la relación con respecto al tiempo del conteo diferenciado de glóbulos blancos, entre el algoritmo de Redes Neuronales Artificiales y el algoritmo propuesto en la presente investigación, ambos aplicados al conteo diferenciado de glóbulos blancos mediante el procesamiento digital de imágenes? ¿Cuál es la relación con respecto al tiempo del conteo diferenciado de glóbulos blancos, entre el conteo mediante PDI basado en el algoritmo diseñado y el proceso manual de conteo diferenciado? ¿Cómo influye en la tasa de error del conteo de glóbulos rojos, el uso del algoritmo de procesamiento digital de imágenes propuesto en esta investigación?	**Específicos** Analizar el resultado del proceso de conteo diferenciado de glóbulos blancos con respecto al tiempo, entre el proceso de conteo mediante el procesamiento digital de imágenes basado en el algoritmo de Redes Neuronales Artificiales y el proceso manual de conteo. Analizar el resultado del proceso del conteo diferenciado de glóbulos blancos con respecto al tiempo, entre el algoritmo de Redes Neuronales Artificiales y el algoritmo propuesto en la presente investigación, ambos aplicados al procesamiento digital de imágenes. Analizar el conteo diferenciado de glóbulos blancos con respecto al tiempo entre el conteo mediante el procesamiento digital de imágenes basado en el algoritmo diseñado en la presente investigación y el proceso manual de conteo. Analizar la tasa de error de conteo de glóbulos rojos basado en el algoritmo de procesamiento digital de imágenes propuesto en esta investigación.	**Específica**: La aplicación del procesamiento digital de imágenes basado en el algoritmo de Redes Neuronales Artificiales permitirá realizar el conteo diferenciado de glóbulos blancos en menor tiempo que el proceso manual de conteo. El tiempo de conteo diferenciado de glóbulos blancos usando el algoritmo propuesto en esta investigación será menor que usando el algoritmo de Redes Neuronales Artificiales, ambos aplicados en el procesamiento digital de imágenes. El tiempo de conteo diferenciado de glóbulos blancos mediante el procesamiento digital de imágenes basado en el algoritmo diseñado propuesto en la presente investigación será menor que el proceso de conteo manual. La tasa de error de conteo de glóbulos rojos usando el algoritmo de procesamiento digital de imágenes propuesto en esta investigación no superará el 5%. .	**Variables Independientes:** – Algoritmo **Variables Dependientes:** – Tiempo de conteo de células sanguíneas. **Variables Independientes:** – Algoritmo **Variables Dependientes:** – Tiempo de conteo de células sanguíneas. **Variables Independientes:** – Algoritmo **Variables Dependientes:** Tiempo de conteo de células sanguíneas **Variables Independientes:** – Algoritmo **Variables Dependientes:** – Error de conteo.	

Fuente: Elaboración propia

CAPITULO 4: DISEÑO DEL ALGORITMO

La presente investigación está basada en el procesamiento digital de imágenes, para ello se desarrolló un procedimiento para el conteo de glóbulos rojos por milímetro cubico y otro para el conteo diferenciado de glóbulos blancos, y luego se integró ambos procedimientos en un solo algoritmo, con la finalidad de validar el método de conteo de células de sangre propuesto en la tesis.

En el presente capitulo se detalla el proceso de diseño del algoritmo, en base a lo expuesto en el párrafo anterior y en el orden mencionado, es decir, primero se expone acerca del conteo de glóbulos rojos, luego el conteo diferenciado de glóbulos blancos y finalmente la integración de ambos procedimientos en solo algoritmo.

4.1. Conteo de glóbulos rojos

Previamente al proceso de captación de la imagen, necesaria para el conteo de glóbulos rojos se procede a explicar el procedimiento para la observación de los glóbulos rojos por el microscopio.

Se realiza la extracción de sangre explicado en el acápite 2.3.3, luego se disuelve la sangre extraída con el diluyente de Hayem con una

dilución 1/200, a continuación se almacena una gota de sangre diluida en la cámara de Neubauer, finalmente, la muestra de sangre es observada mediante el microscopio.

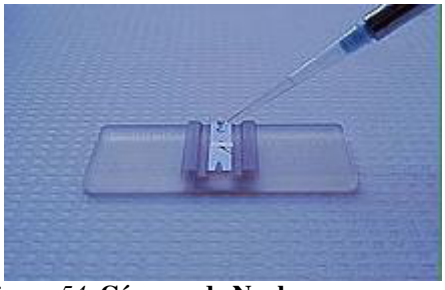


Figura 54. **Cámara de Neubauer.**
Fuente. Elaboración: Propia.

La cámara de Neubauer es un instrumento que sirve para el conteo de células por unidad de volumen en milímetros cúbicos. A continuación se presenta el esquema referencial para el conteo mediante la cámara de Neubauer.

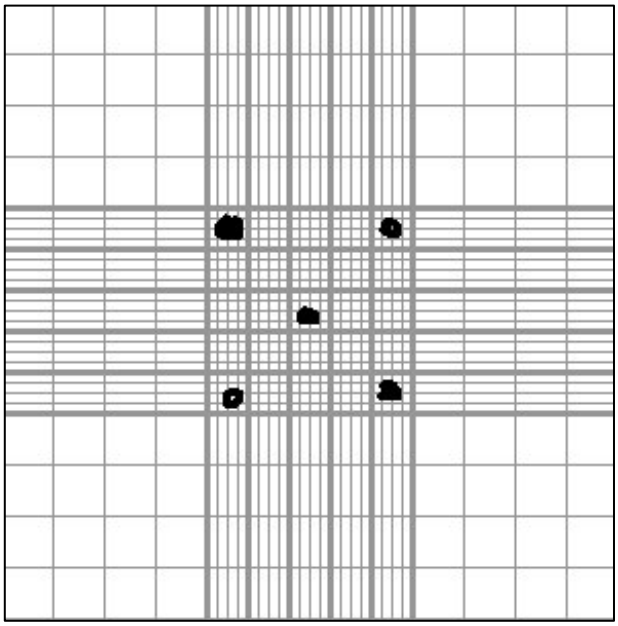


Figura 55. **Cuadriculas para analizar.**
Fuente. Elaboración Propia.

Solo se consideran las imágenes de las cuadriculas marcadas en color negro para realizar el conteo.

La fórmula para obtener el número de glóbulos rojos por unidad de volumen es el siguiente:

$$X = \frac{10\ a\ n}{fd}$$

a: Número total de glóbulos rojos en las cinco cuadriculas.

n: Número de cuadricula en este caso 5

fd: Factor de dilución en este caso 1/200.

X: $Glóbulos\ rojos/mm^3$

Luego, se capta la imagen por el microscopio mediante una cámara digital y un programa desarrollado para esa finalidad, tal como se muestra en la imagen del lado izquierdo de la Figura 56 con un aumento de 10X.

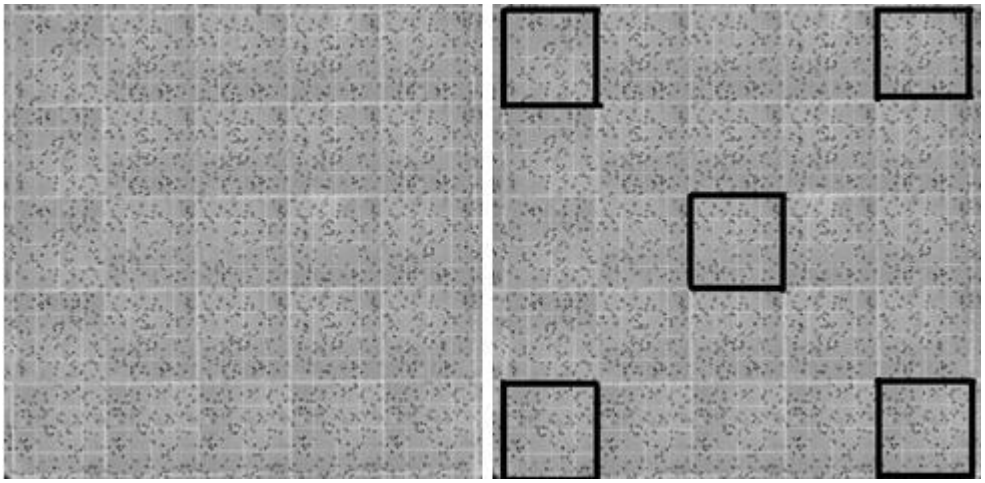


Figura 56. **Imagen captada.**
Fuente. Elaboración propia.

El programa desarrollado recorta cada una de las cuadriculas indicadas con color negro de la imagen izquierda de la Figura 56. Para este propósito se usó la Transformada de Hough para la detección de las líneas que determinan las cuadriculas es decir líneas horizontales y líneas verticales.

En la Figura 57 se detectan líneas horizontales, específicamente cada una con un ángulo de inclinación de 0º mediante la aplicación de las relaciones de transformación:

$$b = y_i - ax_i$$

$$x_i \cos\theta + y_i \sin\theta = \rho$$

Las que se explicaron en el acápite 2.4.4.4.

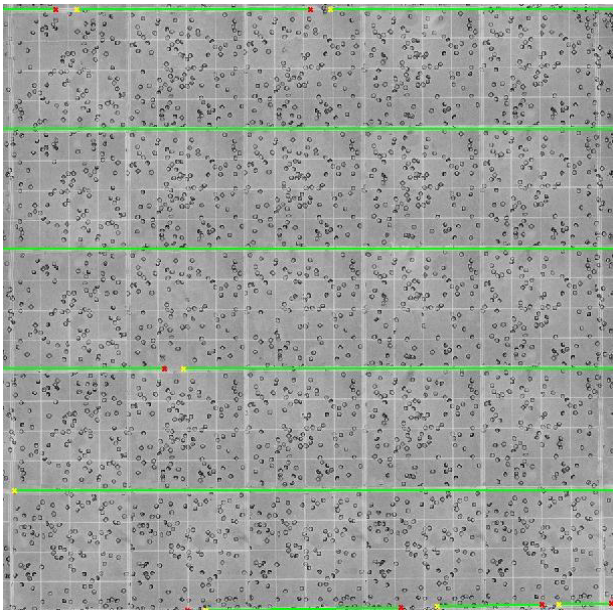


Figura 57. **Líneas horizontales detectadas.**
Fuente. Elaboración propia.

En la figura 57 se observa las líneas de color verde las rectas detectadas las cuales como son colineales, son unidas para determinar las líneas horizontales, las que se pueden observar en la Figura 58.

Figura 58. **Líneas horizontales unidas.**
Fuente. Elaboración propia.

Para el caso de las líneas verticales se efectúa el mismo procedimiento, solo que las líneas detectadas tienen un ángulo de inclinación de 90º, tal como se observa en las Figuras 59 y 60.

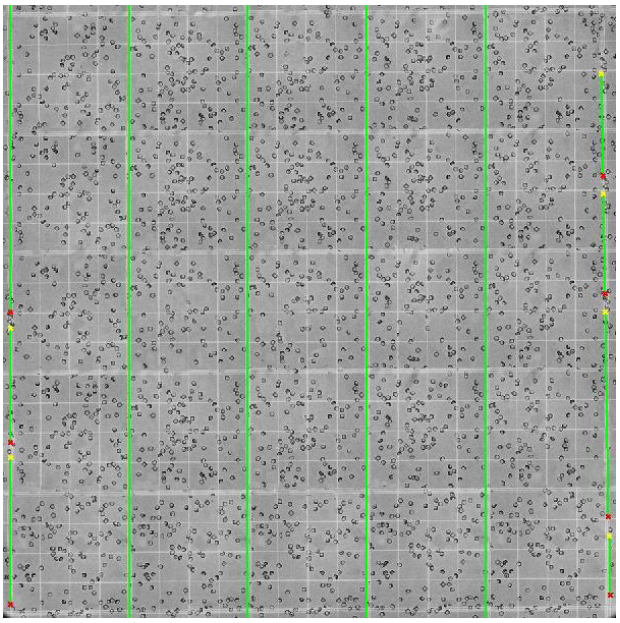


Figura 59. **Líneas verticales detectadas.**
Fuente. Elaboración propia.

En la Figura 59 son detectadas las líneas verticales, las cuales posteriormente son unidas, formando las líneas verticales tal como se observa en la Figura 60.

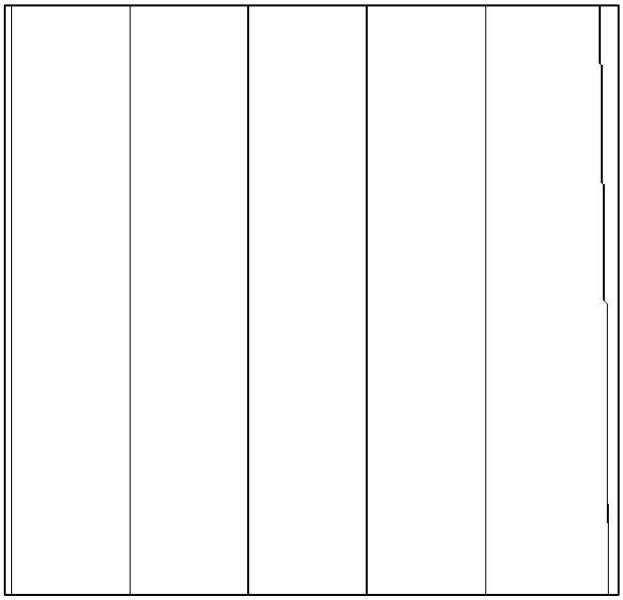


Figura 60. **Líneas verticales unidas.**
Fuente. Elaboración propia.

A continuación se realiza la operación lógica "or" entre la imagen de la Figura 58 y la Figura 60 esta se describe mediante la siguiente operación:

A+ B= C

Dónde:

A: Es la imagen de líneas horizontales.
B: Es la imagen de líneas verticales.
C: Es la imagen resultante de la suma lógica de A y B ver Figura 61.

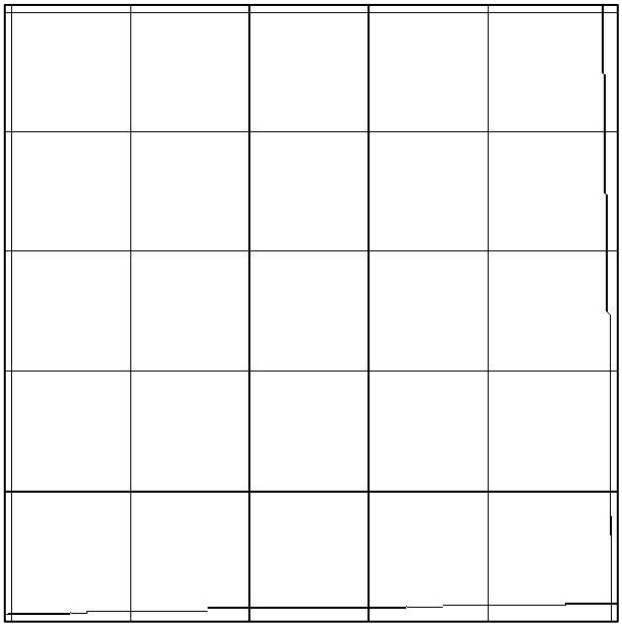


Figura 61. **Suma de Imágenes A y B.**
Fuente. Elaboración propia.

La imagen resultante C es delimitada eliminando objetos de los bordes por lo que se obtiene la imagen de la Figura 62.

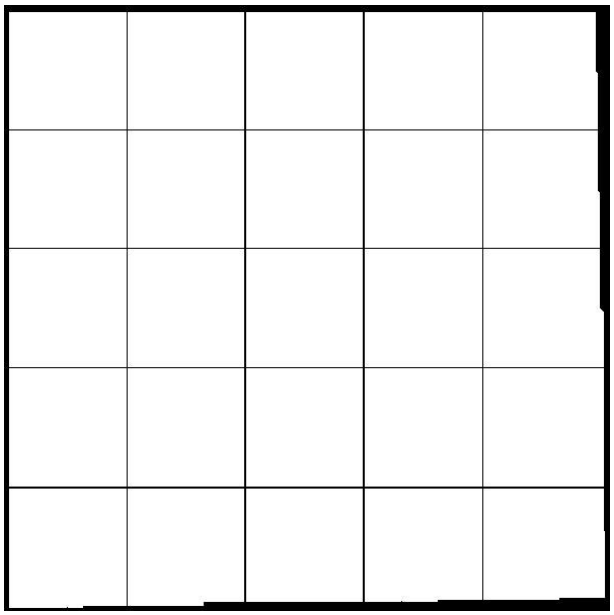


Figura 62. **Imagen C delimitada.**
Fuente: Elaboración propia.

A partir de esta referencia se selecciona en la imagen original las cuadriculas recortadas de la imagen de la Figura 56.

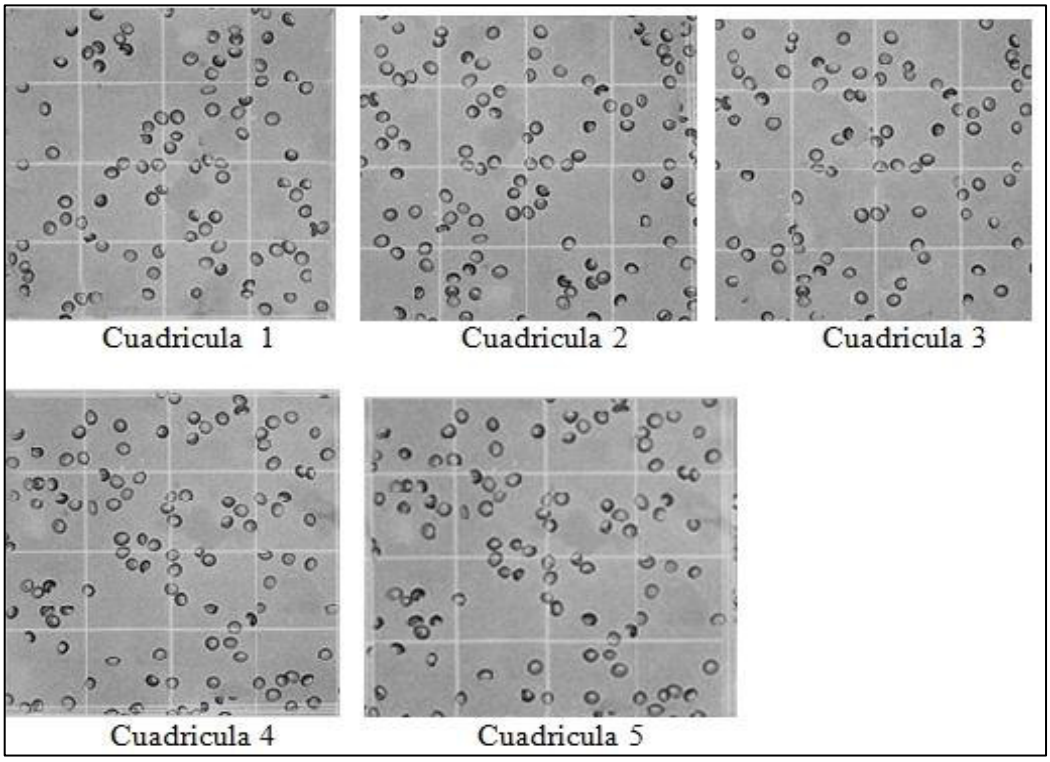


Figura 63. **Imágenes de las cuadriculas de interés recortado.**
Fuente. *Elaboración: propia.*

El resultado es obtener las imágenes de la Figura 63 donde se observa que la imagen de la cuadricula 1, corresponde a la imagen de la parte superior izquierda, la imagen de la cuadricula 2 corresponde a la imagen de la parte superior derecha, la cuadricula 3 corresponde a la imagen de la parte central, la cuadricula 4 corresponde a la imagen de la imagen inferior izquierda y finalmente la cuadricula 5 corresponde a la imagen de la parte inferior derecha, todo referido a imagen inicial de la Figura 56 del lado derecho. El código en Matlab referente a esta parte de la captación de las imágenes de las cuadriculas se presenta en el Anexo 1 en el Código de programa 30.

A continuación se realiza el conteo respectivos de cada una de las imágenes para finalmente calcular el número de glóbulos rojos por milímetro cubico

En la investigación se implementaron 03 métodos de conteo de glóbulos rojos:

- Método de conteo por estimación de áreas
- Método de conteo mediante la Transformada de Watershed.
- Método de conteo mediante la Transformada Hough.

Estos métodos son abordados en los ítems 4.2, 43 y 4.4 respectivamente, donde en cada ítem se describe el procedimiento que implementa cada método, esta descripción finaliza con la presentación del algoritmo respectivo mediante su diagrama de flujo.

Luego se realiza una comparación para elegir el método más conveniente con la finalidad de efectuar el conteo de glóbulos rojos que se aborda en el Ítem 4.5.

4.2. Conteo de glóbulos rojos basado en áreas

Este procedimiento comienza analizando la imagen de una de las cuadriculas recortadas obtenidas en la Figura 63, captada mediante una cámara digital instalada en el microscopio y obtenida mediante el procedimiento descrito en el ítem 4.1. Luego, es mejorada, umbralizada que constituye el procesamiento digital de imágenes de nivel bajo, para su segmentación, el cual forma parte del procesamiento digital de nivel medio, continua con un acondicionamiento para realizar el conteo de las células de la imagen aplicando la estimación de áreas, que finalmente constituye el procesamiento digital de nivel alto.

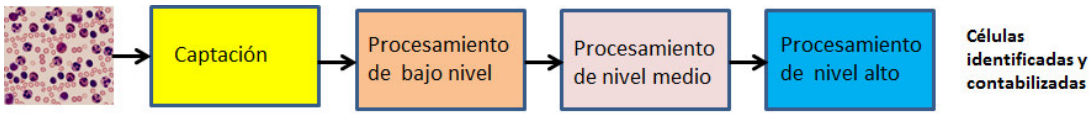


Figura 64. **Procesamiento digital imágenes de glóbulos rojos.**
Fuente. Elaboración propia.

El proceso mencionado cumple con lo expuesto en el ítem 2.3.3 y se gráfica en la Figura 64, es decir, se verifica cada una de las etapas de un procesamiento digital de imágenes.

El procesamiento digital de imágenes para el conteo de glóbulos rojos basado en áreas sigue la siguiente secuencia:

- Captación de la imagen
- Mejora de la imagen
- Umbralización de la imagen
- Negativo y relleno de agujeros
- Remoción y Relleno de agujeros, Dilatación, Erosión y Relleno de agujeros
- El conteo de células por estimación de áreas.

Finalmente, se presenta un diagrama de flujo de la secuencia mencionada en la Figura 70. En los siguientes ítems se detalla cada proceso.

4.2.1. *Captación de la imagen*

La imagen de una muestra es captada y descrita en el ítem 4.1 con una cámara digital y convertida de color a niveles de gris. La conversión se realiza mediante la ponderación de los distintos componentes de color de cada pixel de la imagen. Para realizar la conversión basta con aplicar la ecuación descrita en el acápite 2.4.2.3.

$$Y = 0.3R + 0.596G + 0.11B$$

Dónde:

Y: Nivel de gris

R: Nivel de rojo

G: Nivel de verde

B: Nivel de azul

La imagen de la Figura 65 es la imagen que se procesa para realizar el conteo de glóbulos rojos, que es la que corresponde a una cuadrícula, de las que se obtiene al final del proceso de captación descrita en el ítem 4.1.

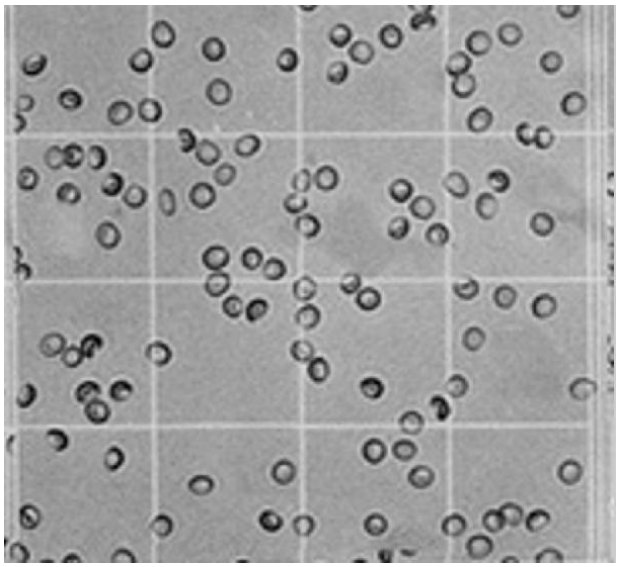


Figura 65. **Imagen captada en niveles de grises.**
Fuente. Elaboración propia.

La imagen de la Figura 65 se obtiene a partir de la imagen de la cuadricula inferior izquierda, luego de ser amplificada 5 veces. Este proceso consiste en establecer proceso de replicación de un pixel en varias direcciones a su alrededor.

4.2.2. Mejora de la Imagen

Se emplea la ecualización del histograma de la imagen anterior, para mejorar el contraste de la imagen y poder realizar la ecualización, para la segmentación de las células de la imagen. La ecualización es una forma específica de transformación que tiende a lograr una aproximación muy próxima a una distribución de Rayleight, solo que esta ocasión se ha puesto más énfasis en los pixeles de mayor nivel de gris. Lo cual se observa en la Figura 66.

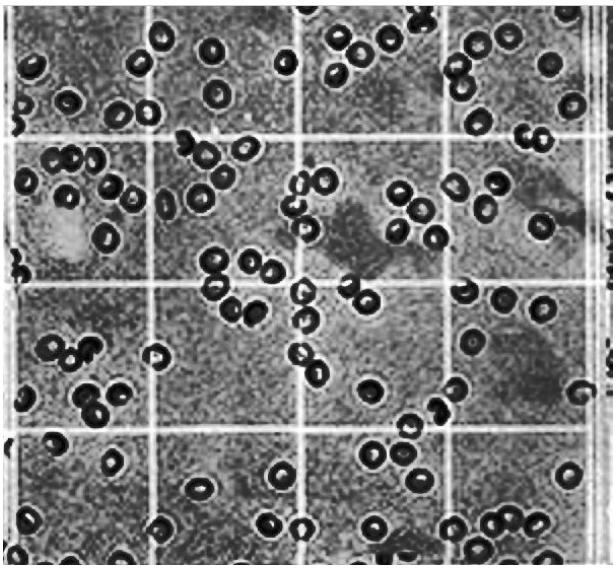


Figura 66. **Imagen ecualizada.**
Fuente. Elaboración Propia.

4.2.3. Umbralización de la imagen

Este proceso consiste en la determinación de un nivel de umbral para pasar los pixeles de la imagen en solo dos niveles de gris, decir "negro" representado por el numero "0" y "blanco" por "1", el umbral viene a ser un valor que tal como Um que se obtiene de:

$$\mathrm{Um} = \frac{\mathrm{NG}}{255}$$

Dónde:

NG: Nivel de gris

Um: Nivel de umbral.

De acuerdo con el valor obtenido para el valor de Um según el Método de Otsu en el acápite 2.4.3.3, El procedimiento consiste en indicar que valores son superiores a Um y si lo son entonces el pixel cambia a negro de lo contrario el pixel su coloración es de color blanco.

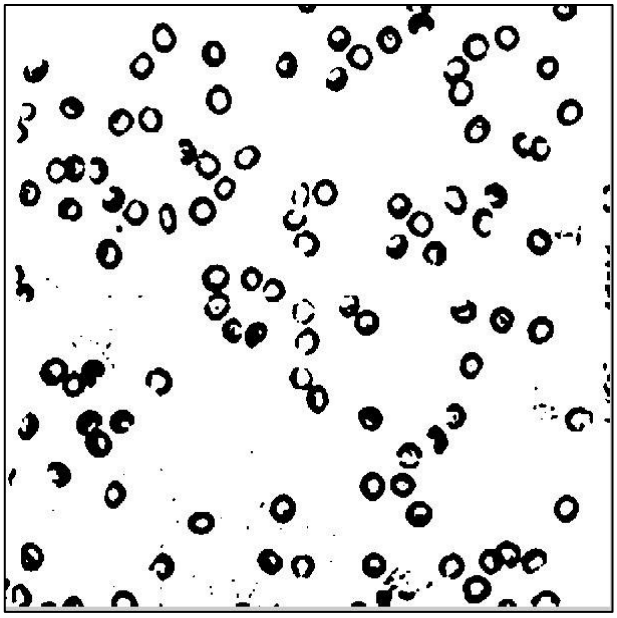


Figura 67. **Imagen umbralizada.**
Fuente. Elaboración propia.

4.2.4. Negativo y relleno de agujeros

La imagen en este momento está constituida por unos y ceros, donde el valor "0" está representado por el blanco y el negro por el valor "1" en la Figura 67. A continuación, sobre la imagen se realiza una operación lógica de negación y al mismo tiempo de una operación de dilatación para cubrir agujeros en los objetos de la imagen, dando como resultado la imagen de la Figura 68.

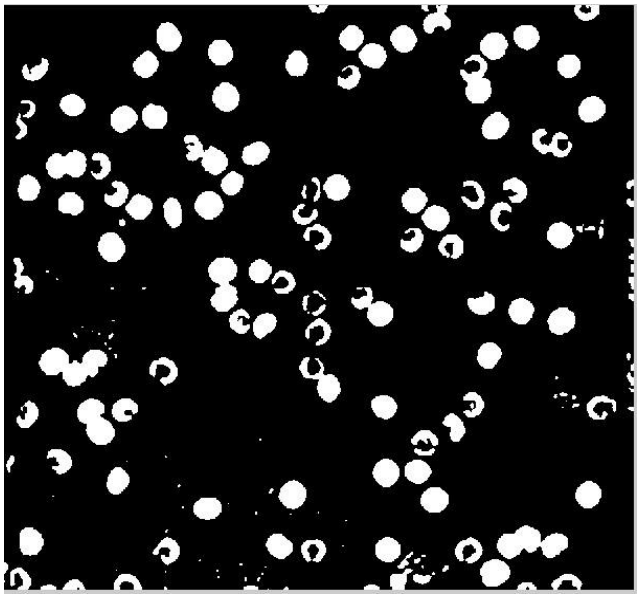


Figura 68. **Imagen en negativo.**
Fuente: Elaboración propia.

4.2.5. Remoción y relleno de agujeros, Dilatación, Erosión y relleno de agujeros

En la Figura 69, Imagen 1 representa la eliminación de objetos y luego se realiza el relleno de los objetos con agujeros de la imagen de la Figura 69, con la finalidad de resaltar los objetos, el resultado se presenta en la Imagen 2, donde los objetos son dilatados y en la Imagen 3, los objetos son erosionados para poder delimitar cada objeto y finalmente

son rellenados los agujeros que se presentan. La Imagen 3 está lista para ser procesada para el conteo de células.

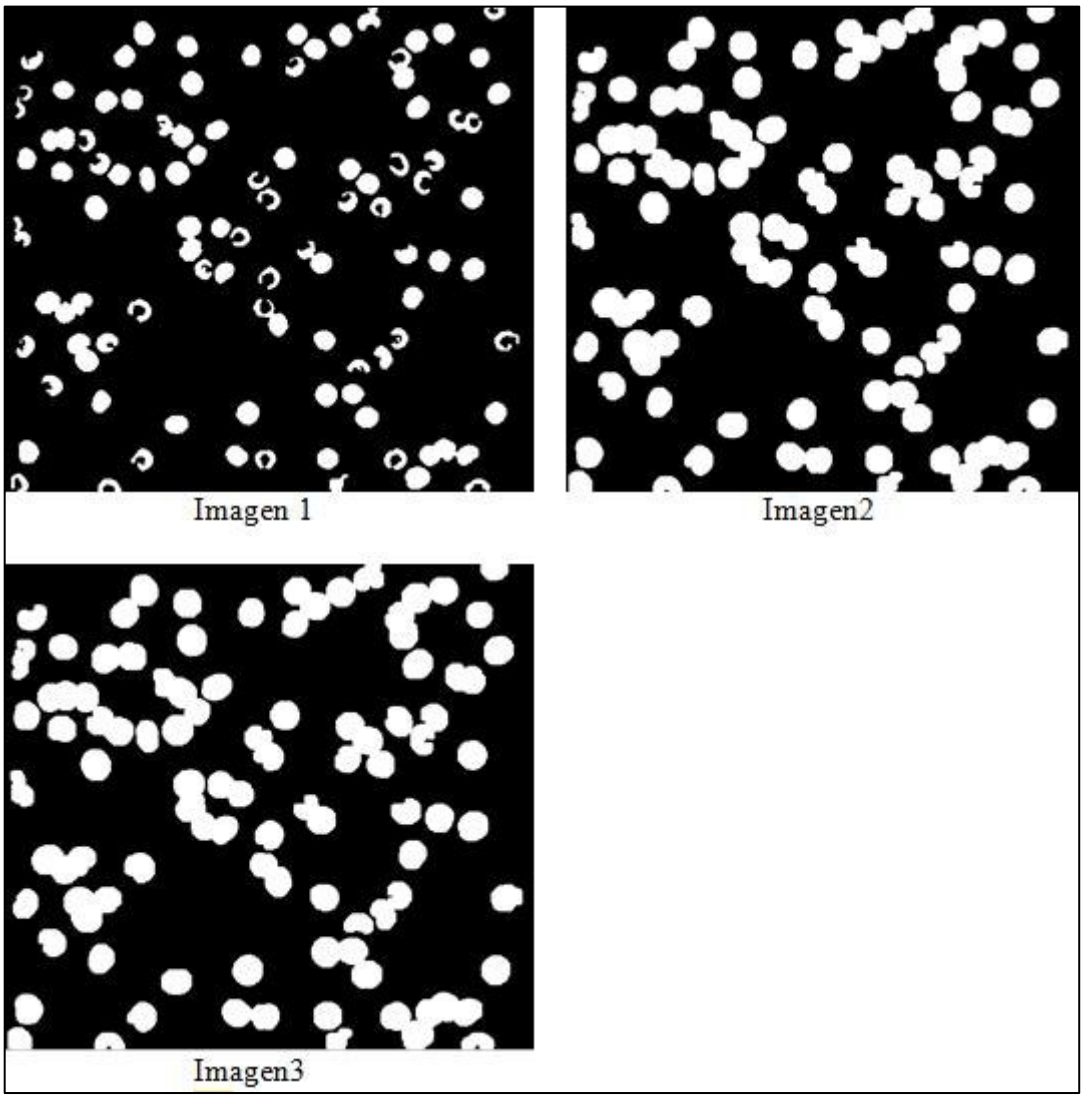


Figura 69. **Imagen3 luego de remoción- relleno-dilatación-erosión y relleno.**
Fuente. Elaboración propia.

4.2.6. El conteo de células por estimación de áreas

Para realizar el conteo de células se estima unos 400 pixeles por cada objeto o célula que es la medida en promedio de cada objeto, luego se divide cada objeto entre 400 si el resultado es menor que 1 se considera 1 objeto, si es mayor que 1, se aproxima al inmediato superior para determinar el número de células por objeto. Para esto el programa

identifica cada objeto en la imagen y realiza el cálculo mencionado y luego suma el total de células en toda la imagen.

A continuación los resultados de la comparación del método manual y el método basado en la estimación de áreas, para ello se consideran 19 imágenes de glóbulos rojos para realizar el conteo y luego se calcula el error de conteo en cada imagen y luego se calcula el error de conteo en porcentaje. Finalmente se obtiene el resultado del error promedio ver cuadro 4.

Cuadro 4. **Determinación del error de conteo de glóbulos rojos mediante el Método Basado en Áreas**

CM	CBA	Error (%)
97	100	3.1
104	105	1
105	103	1.9
89	90	1.1
99	101	2
102	103	1
93	96	3.2
101	102	1
85	89	4.7
101	100	1
97	101	4.1
96	99	3.1
90	94	4.4
87	88	1.1
97	96	1
97	100	3.1
100	103	3
93	97	4.3
96	100	4.2
Promedio		2.5

Fuente. Elaboración propia.

De la Tabla 01 se observa que el valor promedio del error de conteo es 2.5%, CM significa Conteo Manual y CBA significa Conteo Basado en Estimación de Áreas.

Asimismo que el valor máximo es 4.7% y el minino es 1%, estos valores están por debajo de un error de 5%.

El diagrama de flujo del procedimiento de conteo de glóbulos rojos por estimación de áreas, se observa en la Figura 70.

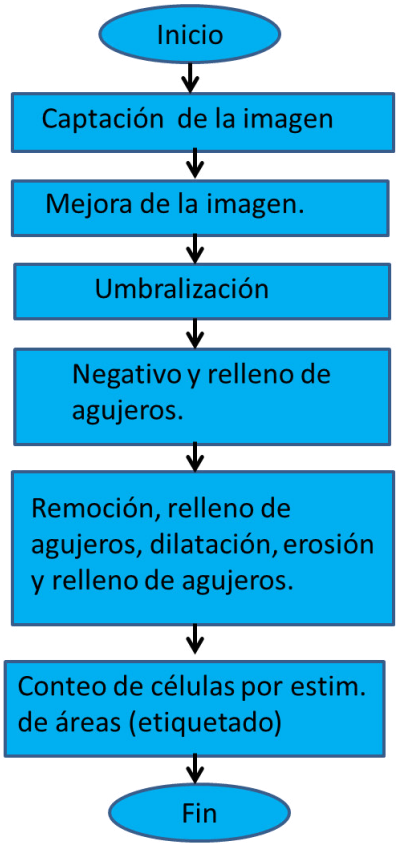


Figura 70. **Diagrama de flujo del algoritmo del procedimiento del conteo de glóbulos rojos por estimación de áreas**.
Fuente. Elaboración propia.

En los algoritmos posteriores se considera siempre el proceso de captación de la imagen descrito en el ítem 4.1. El Código de programa 31 del Anexo 1 presenta la codificación que permite ejecutar el algoritmo de conteo basado en áreas desarrollado en Matlab.

4.3. *Método de conteo mediante la Transformada de Watershed*

La transformada de Watershed nos permite segmentar los objetos de la imagen y luego determinar sus contornos incluso cuando los objetos de la imagen se encuentran superpuestos, y especialmente en el caso de objetos como son los glóbulos rojos. Para la aplicación de este método es necesario realizar la siguiente secuencia:

- Captación de la imagen
- Contraste.
- Complemento del contraste.
- Segmentación por Umbralización.
- Determinación de regiones de máxima brillantez
- Determinación del mínimo de nivel de gris.
- Segmentación mediante la Transformada de Watershed.
- Segmentación para el conteo

4.3.1. Contraste de la imagen de glóbulos rojos

Se realiza de manera posterior a la captación de la imagen, ya explicado anteriormente en el ítem 4.1 donde se obtiene las imágenes de las cuadriculas de interés en la Figura 63. Este procedimiento tiene por finalidad la mejora de la imagen de cada cuadricula, mediante contraste para y obtener las formas y niveles de grises de los objetos más definidos para la realización de posteriores procedimientos. Para conseguir el contraste deseado se emplea una ecualización al Histograma de la imagen 1 mostrada en la Figura 72 pero con una distribución de Rayleight ver Figura 71, y se obtiene la imagen 1 y su histograma en la Figura 73. En este caso la mayor concentración de pixeles está hacia el lado izquierdo como se muestra en la Figura 69.

$$f(x) = \frac{x}{\sigma^2} e^{-\frac{x^2}{2\sigma^2}} \quad \text{si} \quad x \geq 0 \quad \text{y} \quad E[x] = \frac{\sqrt{\pi}}{2}\sigma$$

$$V[x] = \frac{4-\pi}{2}\sigma^2 \quad y \quad \sigma = \sqrt{\frac{1}{2N}\sum_{i=0}^{N} x_i^2}$$

Dónde:

x: Es una variable aleatoria

E[x]: Esperanza

V[x]: Varianza

σ: Parámetro calculado mediante maxima verosimilitud.

f(x): Función de distribución de probabilidad.

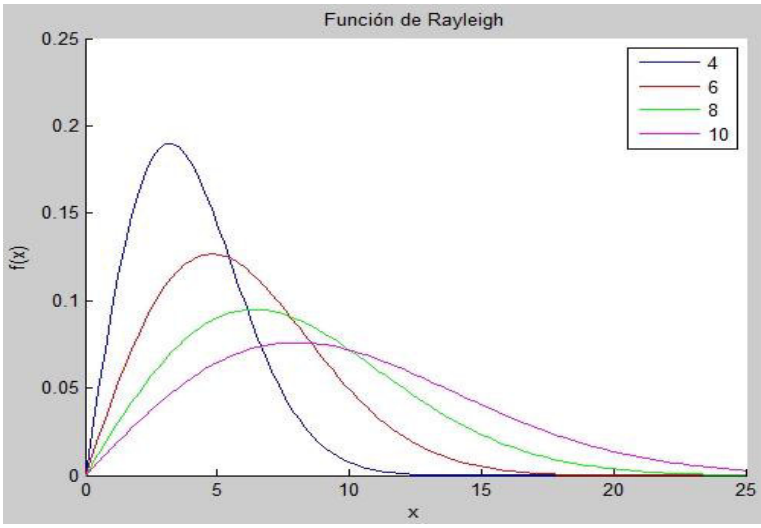


Figura 71. **Función de Rayleight.**
Fuente. Elaboración propia

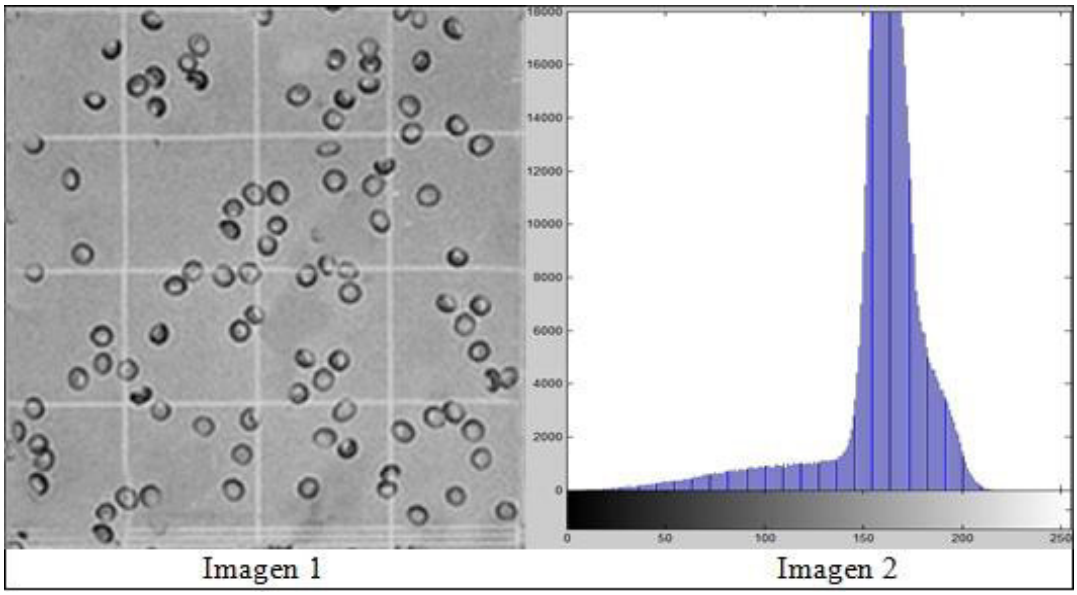


Figura 72. **Imagen 1 y su histograma en la imagen 2.**
Fuente. Elaboración propia.

En la imagen 2 de la Figura 73, se observa el efecto de la ecualización en el Histograma, donde se aprecia que la mayor cantidad del histograma de pixeles está orientada hacia la izquierda con respecto a la imagen 2 de la Figura 72, tal como se aprecia en la Figura 69 Función de Rayleight.

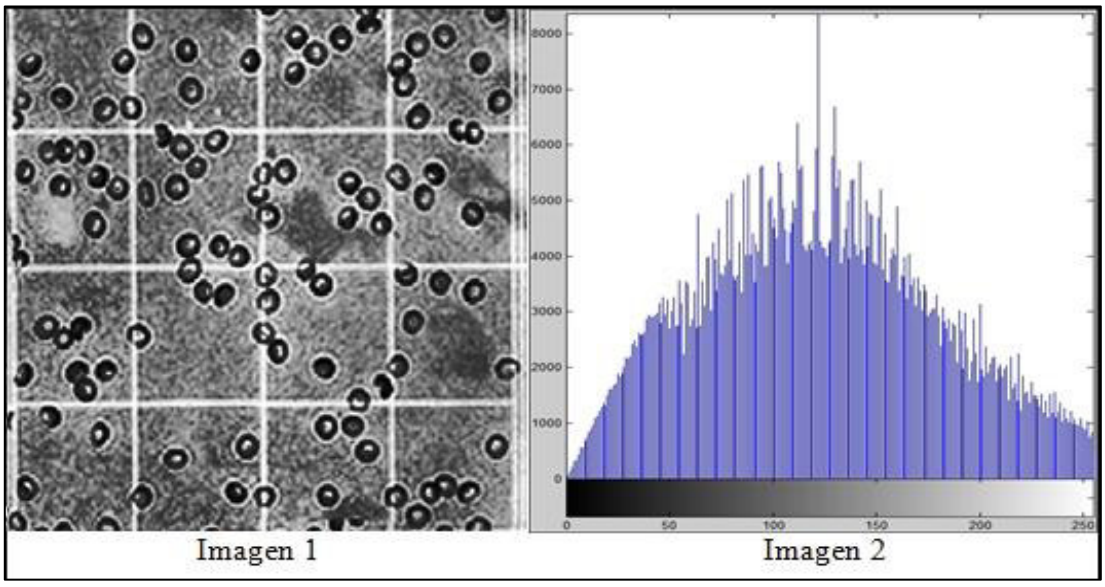


Figura 73. **Imagen2 y su histograma en la imagen 2, resultado de una ecualización**.
Fuente. Elaboración propia.

4.3.2. Complemento del contraste

En esta parte del proceso se aplica a la imagen 1 de la Figura 73 el complemento aritmético a 2 a cada pixel para obtener la imagen de la Figura 74. Este procedimiento se realiza con la finalidad de realizar la determinación de las regiones de máxima brillantes

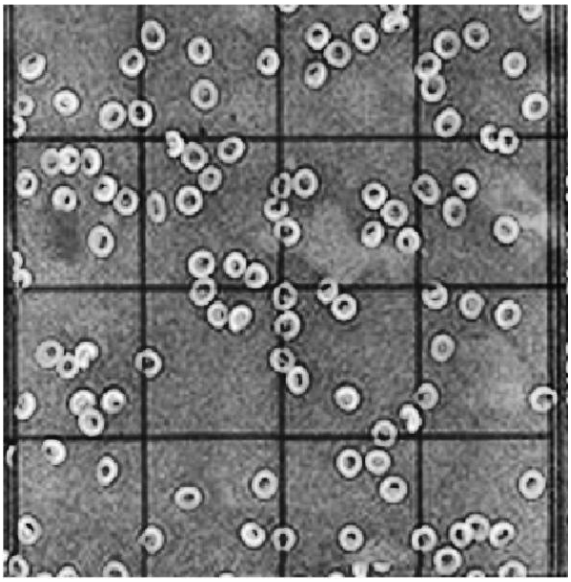


Figura 74. **Imagen complemento de la imagen 1 de la Figura 73**.
Fuente. Elaboración propia.

4.3.3. Segmentación por Umbralización

En esta parte, se realiza la umbralización para realizar la segmentación y determinar los objetos o células para poder etiquetarlos e identificarlos a cada uno. El proceso de etiquetado consiste en dar un número a cada región de color blanco el cual está constituido por pixeles de valor “1”, y corresponde en niveles de gris, al nivel máximo de brillantes (blanco) y al resto el valor de “0”. El resultado de este proceso se observa en la Figura 75.

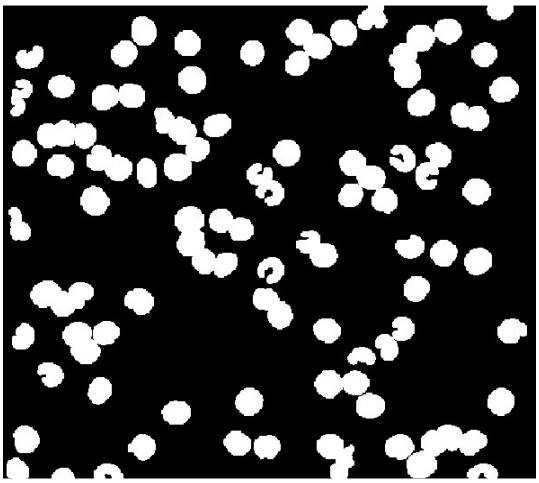


Figura 75. **Imagen umbralizada**.
Fuente. Elaboración propia.

4.3.4. Determinación de regiones de máxima brillantes

Este proceso consiste en determinar que pixeles de la imagen 1 de la Figura 73 tienen el máximo valor de brillantes, es decir, el color blanco cuyo valor es 255 y si no lo es, reemplazarlo con 00 que es el color negro. Luego, se cierran los objetos más brillantes, es decir todos aquellos intersticios entre objetos, se eliminan; mediante una operación de erosión y dilatación, respectivamente. Luego, se realiza una operación de eliminación de agujeros internos. Finalmente se eliminan objetos de área equivalente a 40 pixeles. El resultado de este proceso se observa en la imagen de la Figura 76.

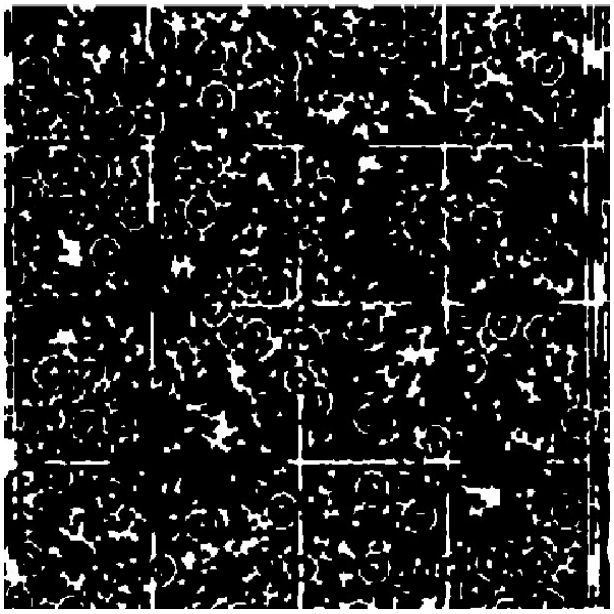


Figura 76. **Imagen con los máximos niveles de brillo segmentado**.
Fuente. Elaboración propia.

4.3.5. Determinación de mínimos niveles de grises

Este proceso consiste en marcar con nivel de gris negro los núcleos de los glóbulos rojos para aplicar la Transformada de Watershed. El proceso realizado consiste en una operación lógica "OR" entre la imagen en negativo de la Figura 75, que es la imagen 1 de la Figura 77, y la imagen 2 de la Figura 77 (Figura 76). Luego, se obtiene como resultado una imagen donde el medio extracelular se imprime de color blanco tal como se presenta en imagen 3 de la Figura 77. A continuación, la imagen 3 de la Figura 77, es evaluada pixel por pixel tomando como referencia la imagen 4 de la Figura 77 (Figura 74). La evaluación consiste en comparar si un pixel de la imagen 3 es blanco entonces, el pixel correspondiente en la imagen 4 se cambia a color negro, y así sucesivamente, se compara todos los pixeles de la imagen 4; si el pixel es de color negro se mantiene el nivel de gris de la imagen 4. Finalmente se obtiene la imagen de la Figura 78, en donde claramente se observa en la imagen que los núcleos se han teñido de color negro.

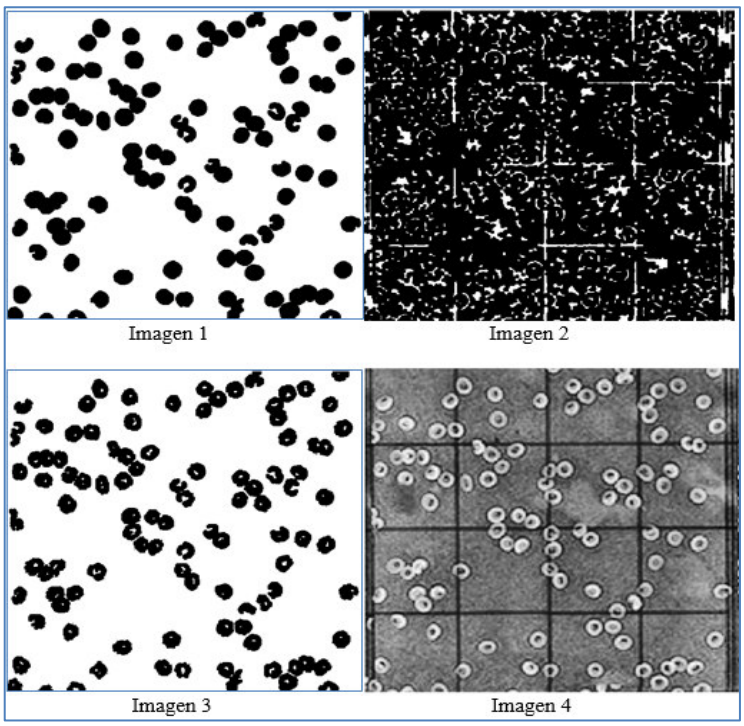


Figura 77. **Proceso para obtener niveles de gris negro en Imagen 4**.
Fuente. Elaboración propia.

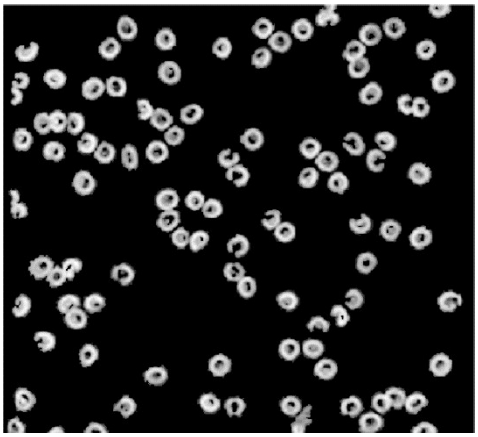


Figura 78. **Imagen preparada para la aplicación de la Transformada de Watershed**.
Fuente. Elaboración propia.

4.3.6. Segmentación mediante la Transformada de Watershed

Mediante este proceso descrito de la transformada de Watershed que consiste en inundar a partir de los niveles de gris de color negro hacia los bordes de máximo nivel de gris, quedando estas regiones como los límites de los objetos, aun si estos se superpusieran, los objetos de esta manera se delimitan constituyendo una forma segmentación, el resultado de este proceso se observa en la imagen de la Figura 79.

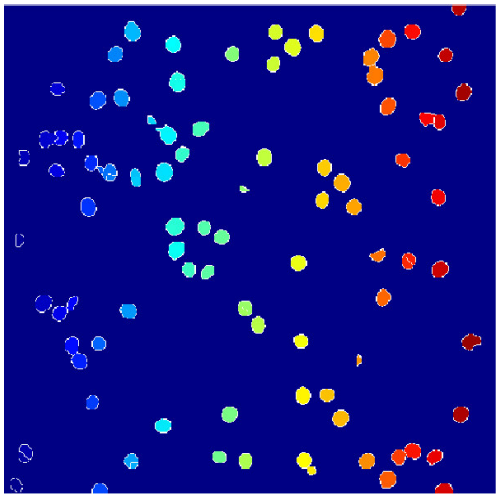


Figura 79. **Imagen segmentada mediante la Transformada de Watershed**.
Fuente. Elaboración propia.

4.3.7. Conteo de células

Este proceso se realiza una vez que se produce la segmentación mediante la Transformada de Watershed. A continuación el proceso de etiquetado se aplica a cada elemento de la imagen para el conteo. El etiquetado consiste en asignar a cada objeto de la imagen segmentada un número diferente y por lo tanto el objeto que tenga el mayor número será el número de objetos de la imagen. La imagen para el conteo es la que se presenta en la Figura 80.

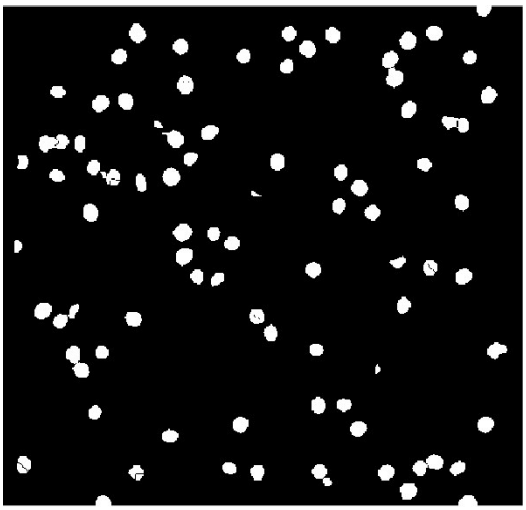


Figura 80. **Imagen preparada para el conteo de glóbulos**.
Fuente. Elaboración propia.

A continuación los resultados de la comparación del método manual y el método basado en la Transformada de Watershed, para ello se consideran 19 imágenes de glóbulos rojos para realizar el conteo y luego se calcula el error de conteo en cada imagen y luego se calcula el error de conteo en porcentaje. Finalmente se obtiene en la tabla el resultado del error promedio, ver Cuadro 5.

Cuadro 5. **Determinación del error de conteo de glóbulos rojos mediante el método basado en la Transformada de Watershed**

CM	CBTW	Error(%)
97	104	7.2
104	109	4.8
105	98	6.7
89	85	4.5
99	101	2.0
102	100	2.0
93	94	1.1
101	102	1.0
85	93	9.4
101	100	1.0
97	98	1.0
96	95	1.0
90	89	1.1
87	85	2.3
97	94	3.1
97	103	6.2
100	108	8.0
93	103	10.2
96	96	0.0
Promedio		3.8

Fuente: Elaboración propia.

Del Cuadro 5 se observa que el valor promedio del error de conteo es 3.8%, CM significa Conteo Manual y CTW significa Conteo Basado en Estimación de Áreas.

Asimismo que el valor máximo es 4.7% y el minino es 1%, estos valores están por debajo de un error de 5%.

El diagrama de flujo del procedimiento de conteo de glóbulos rojos por medio de la Transformada de Watershed, se observa en la Figura 81.

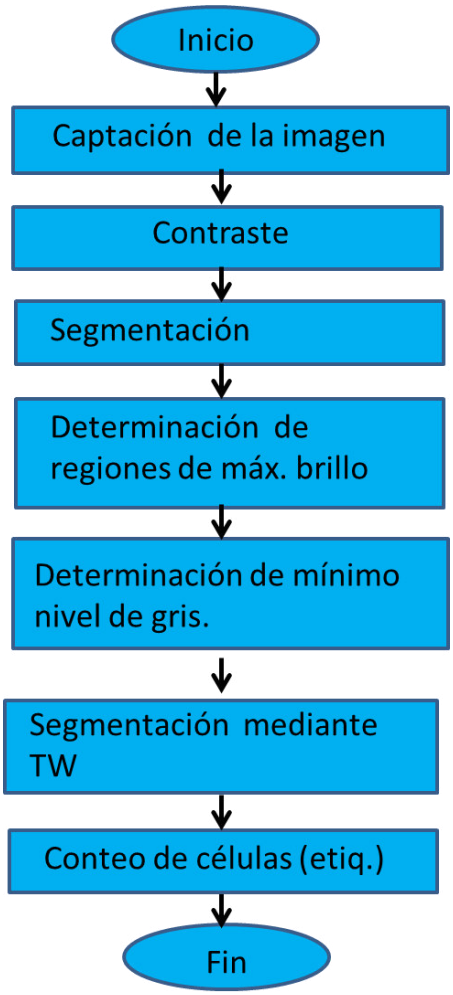


Figura 81. **Diagrama de flujo del algoritmo para el conteo mediante la Transformada de Watershed**.
Fuente. Elaboración propia.

El Código de programa 32 del Anexo 1 presenta la codificación que permite ejecutar el algoritmo de conteo basado en la Transformada de Watershed desarrollado en Matlab.

4.4. Método de conteo mediante la Transformada de Hough

La Transformada de Hough permite detectar figuras geométricas en una imagen, tales como: rectas, círculos y elipses; especialmente en el caso de objetos como los glóbulos rojos que tienen formas casi circulares. Una vez detectada la forma geométrica es posible de ser contabilizada, ya sea a través de las cantidades de rectas que unen dos puntos o los centros que tienen cada círculo o elipse. En el presente caso

se trata de la detección de círculos, para lo cual se debe considerar una matriz paramétrica conocida como espacio de Hough, que en este caso es tridimensional como se explica en el acápite de detección de centros.

Para efectuar el conteo mediante procesamiento digital de imágenes se realizaron las siguientes etapas:

- Captación de la imagen
- Mejora de la imagen por contraste adaptativo.
- Segmentación por umbralización.
- Detección de bordes.
- Detección de centros.

4.4.1. Mejora de la imagen por contraste

Este procedimiento se realiza de manera posterior a la captación de la imagen, ya explicado anteriormente en el ítem 4.1 donde se obtiene las imágenes de las cuadriculas de interés en la Figura 63.

A la imagen de la cuadricula a procesar se le aplica una ecualización de niveles de gris con distribución de Rayleight, que tiene como efecto en el histograma concentrar los niveles de gris hacia el lado izquierdo, incrementando los niveles de gris más oscuros para poder realizar la umbralización y posterior segmentación, tal como se observa en la Figura 73, y continuación en la Figura 82.

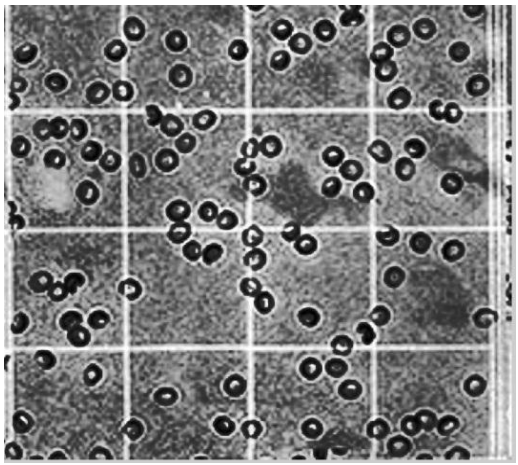


Figura 82. **Imagen mejorada mediante ecualización.**
Fuente. Elaboración propia.

4.4.2. Segmentación por umbralización

En esta parte, se realiza la umbralización para realizar la segmentación y preparar los objetos de a imagen que son las células, para poder realizar la detección de bordes. La segmentación, se realiza eliminado objetos de los elementos que no son las células, dilatando, rellenando los huecos y luego erosionando los objetos correspondientes a las células, el resultado del procedimiento mencionado se observa en la Figura 83.

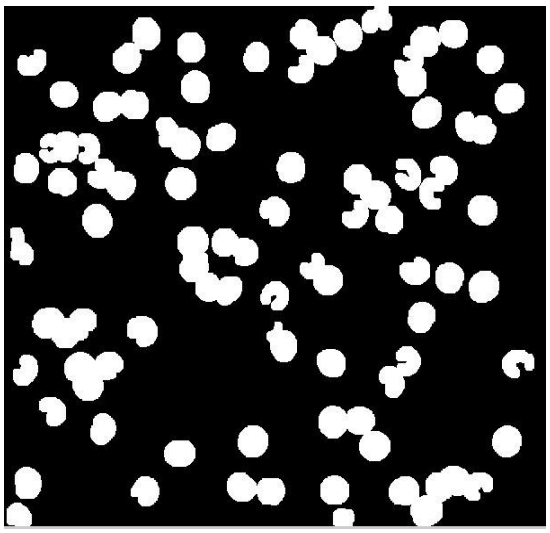


Figura 83. **Imagen segmentada por umbralización.**
Fuente. Elaboración propia

4.4.3. Detección de bordes

La detección de bordes consiste en determinar los cambios de nivel de gris en la imagen, es decir, los bordes de un objeto de la imagen. Para este proceso se emplea la máscara u operador de Canny, que es la que permite detectar los bordes de los objetos y que una vez detectado lo marca con un nivel de gris blanco, tal como se observa en la Figura 84.

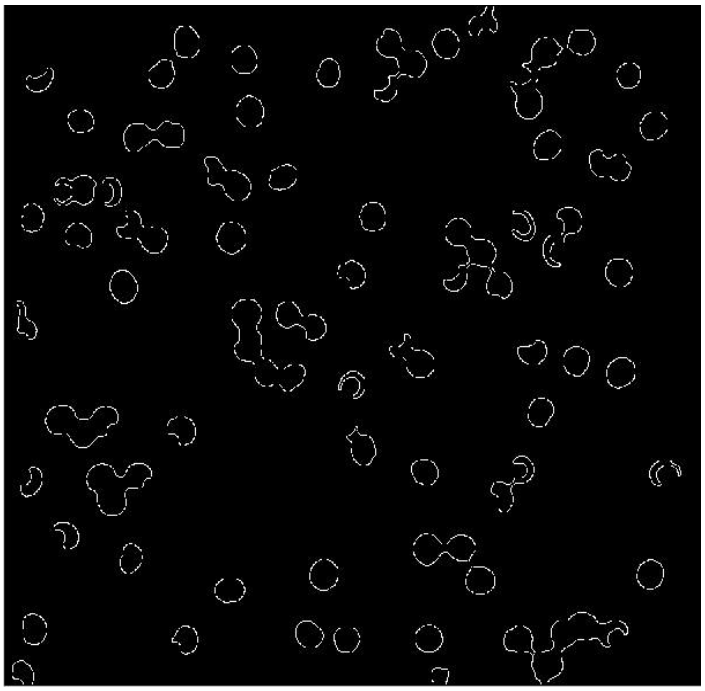


Figura 84. **Imagen con detección de bordes.**
Fuente. Elaboración propia.

4.4.4. Detección de centros y conteo de células

Una vez realizada la detección de los bordes de las células de la imagen, se procede a determinar los centros de las células mediante la técnica de detección de círculos por medio de la Transformada de Hough. Para la determinación de los centros de las células de la imagen, solo se evalúa los bordes de las células, trasladando la imagen al espacio paramétrico de la Transformada de Hough, la cual está constituida por una matriz tridimensional, en la cual cada coordenada está formada por las coordenadas del centro y el radio (x_o,y_o,r), donde el radio varía desde un valor de 0 hasta un valor máximo. La evaluación se realiza por cada pixel de borde detectado y se traza el radio establecido para la

evaluación, y si la coordenada de la matriz paramétrica coincide con el resto de puntos, por cada pixel del borde, se incrementa en uno, es decir actúa como un acumulador. Al final de la evaluación de todos los bordes se observara que ciertos elementos de la matriz tridimensional tienen valores altos, en este caso estas coordenadas de la matriz corresponden a los centros de las células. El resultado se muestra en la imagen de la Figura 85, donde se ha marcado los centros detectados con un aspa. Para determinar el resultado del conteo CTH, se contabiliza el número de centros de detectados.

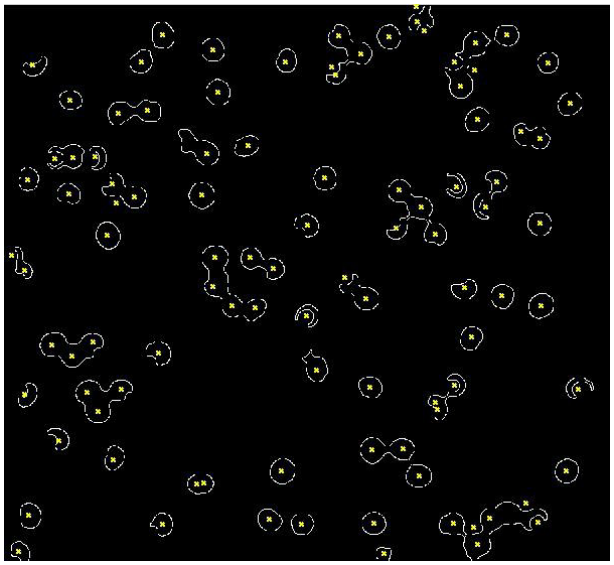


Figura 85. **Detección de centros.**
Fuente. Elaboración propia.

Del Cuadro 6, se observa que el valor promedio del error de conteo es 3.6%, CM significa Conteo Manual y Conteo Basado en la transformada de Hough (CTH). Asimismo que el valor máximo es 6.7% y el minino es 0%, estos valores están por debajo de un error de 5%.

Cuadro 6. **Determinación del error de conteo de glóbulos rojos mediante el método basado en la Transformada de Hough**

CM	CBTH	Error (%)
97	94	3.1
104	99	4.8
105	98	6.7
89	93	4.5
99	93	6.1
102	104	2.0
93	97	4.3
101	99	2.0
85	90	5.9
101	95	5.9
97	96	1.0
96	92	4.2
90	91	1.1
87	90	3.4
97	95	2.1
97	95	2.1
100	91	9.0
93	92	1.1
96	96	0.0
Promedio		3.6

Fuente. Elaboración propia.

El diagrama de flujo del procedimiento de conteo de glóbulos rojos por medio de la Transformada de Hough, se observa en la Figura 86.

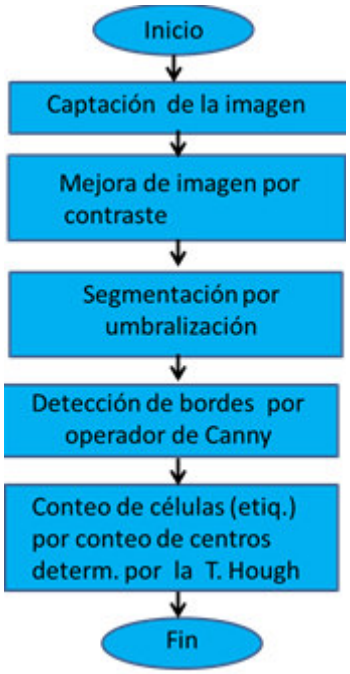


Figura 86. **Diagrama de flujo del algoritmo del procedimiento de conteo de glóbulos rojos mediante la Transformada Hough.**
Fuente. Elaboración propia.

El Código de programa 33 del Anexo 1 presenta la codificación que permite ejecutar el algoritmo de conteo basado en la Transformada de Hough desarrollado en Matlab.º

4.5. Comparación de métodos para el conteo de glóbulos rojos

La comparación se realiza con la finalidad de elegir el método para efectuar el conteo de los glóbulos rojos, determinando que método presenta menos error. El conteo se realiza mediante el conteo de imágenes de glóbulos rojos usando los 3 métodos.

El resultado se observa en el Cuadro 7, donde el menor promedio del error de conteo es obtenido por el Método Basado en la Estimación de Áreas, por tener el menor promedio de error de conteo.

Cuadro 7. **Comparación de los tres métodos para el conteo de glóbulos rojos por el promedio error de conteo.**

Método de conteo	Promedio
CBA	2.5
CBTW	3.8
CBTH	3.6

Fuente. Elaboración propia

En el cuadro 7 las siglas significan lo siguiente: el conteo basado estimación de áreas **(CBA),** conteo basado en la Transformada de Watershed **(CBTW)** y conteo basado en la Transformada de Hough **(CBTH).**

A continuación se presenta el algoritmo de conteo de glóbulos rojos mediante el Método de Conteo Basado en Áreas (CBA) en la **Figura 87**.

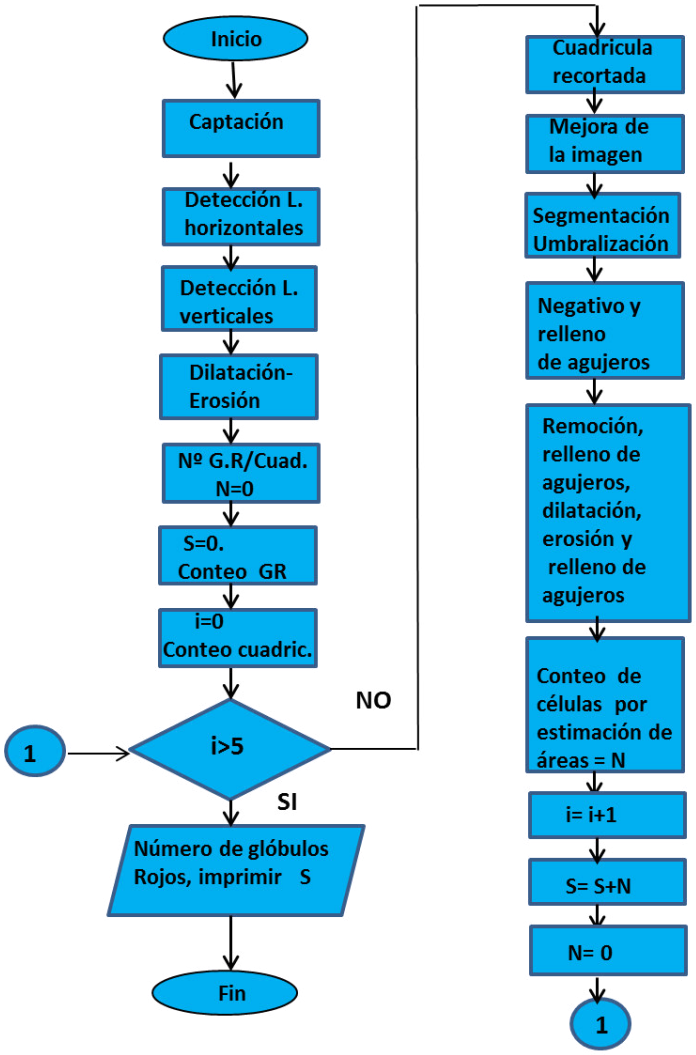


Figura 87. **Algoritmo de conteo de glóbulos rojos mediante el Método de Conteo Basado en Áreas, el código fuente se presenta en el Código de programa 31 del Anexo 1 y en el Cuadro 43 del mismo anexo, sus entradas y salidas.**
Fuente. Elaboración propia.

La Figura 87 presenta el diagrama de flujo del algoritmo de conteo de glóbulos rojos mediante el método de Conteo Basado en Áreas. A continuación se describe cada una de sus etapas siguiendo la secuencia del diagrama de flujo:

- **Captación**

El procedimiento se considera desde la captación de la imagen de los glóbulos rojos en la cámara de Neubauer y tiene como salida el reporte de conteo de los glóbulos rojos en total presentada en la Figura 88. Es decir el conteo de las cinco cuadriculas mostradas en la Figura 56 en la imagen de la derecha donde se indica las cuadrículas de interés. El proceso comienza con la captación de la imagen a color con un aumento de 10X, mediante el microscopio con cámara y luego la imagen es transmitida a la computadora mediante un cable USB.

Para esta etapa se presenta el siguiente Código de programa 1 que permita la captura de la imagen.

```
vid=videoinput('winvideo'); % driver genérico de la cámara
vid.ReturnedColorSpace='rgb';%imagen a color
vidRes=get(vid,'VideoResolution');% resolución por default de la cámara
nBands=get(vid,'NumberOfBands');% 3 bandas de color
himage=image(zeros(vidRes(2),vidRes(1),nBands));%
preview(vid,himage);
```

Código de programa 1. **Configuración para la captación de la cámara.**
Fuente. Elaboración propia

En este bloque se realiza también el cambio de imagen a colores a imagen de niveles de gris explicado en el acápite 4.2.1, con la finalidad de realizar los bloques posteriores se presenta en el Código de programa 2.

```
imagen=rgb2gray(imagen); % conversión de imagen a color a imagen de niveles de gris
```

Código de programa 2. **Conversión de una imagen a colores en niveles de grises.**
Fuente. Elaboración propia

- **Detección de líneas horizontales**

El bloque de detección de líneas horizontales basadas en la Transformada de Hough, es explicada en el acápite 4.1, donde se observa en la Figura 58, la imagen resultante luego de la detección de líneas horizontales, el cual se realiza mediante el siguiente Código de programa 3.

```
bgr1=gril11_h(imagen); % se realiza la detección de líneas en imagen
```

Código de programa 3. **Detección de líneas horizontales en la imagen captada**
Fuente. Elaboración propia

- **Detección de líneas verticales**

El bloque de detección de líneas horizontales basadas en la Transformada de Hough, es explicada en el acápite 4.1, donde se observa en la Figura 60, la imagen resultante luego de la detección de líneas horizontales, el cual se realiza mediante el siguiente Código de programa 4. Al final de este bloque se realiza la operación lógica de "or" entre la imagen obtenida en el bloque anterior y el presente, para tener la imagen segmentada en cuadriculas como la que se presenta en la Figura 62, a cuyo resultado se le aplica a operación lógica de "not" para obtener su negativo.

```
bgr2=gril22_v(imagen);% se guarda el resultado en bgr2
bgr3=or(bgr1,bgr2); % Realizando la operación or a  las imágenes
bgr4=~bgr3; % guardando el negativo  de bgr3
```

Código de programa 4. **Detección de líneas verticales y obtención de las cuadriculas como en la Figura 62.**
Fuente. Elaboración propia

- **Dilatación-erosión**

En este bloque se realiza la operación de dilatación de la imagen obtenida en el bloque anterior y luego erosión con la finalidad de unir pixeles adyacentes a los objetos de la imagen y luego uniformizar los bordes, este procedimiento se encuentra describe en el acápite 4.2.5.

- **Nº G.R/Cuadriculas**

En este bloque se obtienen las imágenes de cada una de las cinco cuadriculas tal como se presenta en la Figura 56 y explicado en el acápite 4.1, específicamente en la imagen del lado derecho. Se inicializa el contador de los glóbulos rojos que hay en una cuadrícula con "N=0", mediante el Código de programa 5.

```
contagr_bea(imagen); %Obtiene las cuadrículas presentadas en la Figura 56.
```

Código de programa 5. **Obtiene las imágenes de las cuadriculas de la imagen captada**
Fuente. Elaboración propia

- **Inicializador, S=0**

Se inicializa el acumulador del conteo de glóbulos rojos, que se obtienen con en N, donde acumula el número de glóbulos rojos en cada cuadrícula.

- **Inicializador, i=0**

Se inicializa el contador de cuadriculas con la variable i.

- **Condicional, i>5**

Este bloque condicional si no se cumple, inicia el proceso de conteo de glóbulos rojos en una cuadrícula, con el bloque Cuadrícula recortada. Si se cumple, se ejecuta el bloque Número de glóbulos rojos, donde se imprime el número total de glóbulos contados en cada cuadricula, además del total.

- **Cuadrícula recortada**

En este bloque se obtiene la cuadricula recortada como se presenta en la Figura 65 del acápite 4.2.1, dando inicio al proceso de conteo. En esta fase la imagen de la cuadrícula es aumentada en cinco veces su tamaño original, tal como se presenta en el siguiente Código de programa 6.

```
I_cropped = imresize(imagen,5);% Se aumenta el tamaño de la imagen por 5.
```

Código de programa 6. **La imagen de la cuadrícula es aumentada 5 veces para un análisis más detallado.**
Fuente. Elaboración propia

- **Mejora de la Imagen**

En este bloque se mejora el contraste de la imagen mediante la ecualización de su histograma con la distribución de Rayleight, como se presente en el siguiente Código de programa 7, el cual se trató en el acápite 4.2.2 y presentado en la Figura 66.

```
I_eq = adapthisteq(I_cropped,'NumTiles',[3, 3],'clipLimit',0.997,…
'Distribution','rayleigh'); % Mejora mediante ecualización Rayleigh
```

Código de programa 7. **Ecualización de la imagen mediante la distribución de Rayleigh**.
Fuente. Elaboración propia

- **Segmentación por umbralización**

En este bloque se realiza la segmentación de los objetos de la imagen, es decir la selección de los objetos de la imagen para ser procesados, mediante la umbralización, cuyo método fue tratado en el acápite 4.23 y presentado en la Figura 67, y se presenta en el siguiente Código de programa 8.

```
BW_eq=  im2bw(I_eq, 0.18999);% se elige el umbral 0.189999
```

Código de programa 8. **Segmentación por umbralización**
Fuente. Elaboración propia

- **Negativo y relleno de agujeros**

Mediante este bloque se obtiene el negativo de la imagen obtenida mediante la operación "Not" lógico, para considerar a los objetos de la imagen cuyos pixeles tengan el valor lógico de "1", manifestándose en la imagen con el color blanco y negro el fondo de la imagen con valor lógico "0" que representa el mínimo valor de nivel de gris, este proceso es explicado en el acápite 4.2.4 y presentado en la Figura 68. Mediante el siguiente Código de programa 9 se ejecuta este bloque.

```
BW_eq1 = imfill (~BW_eq, 'holes'); %Se niega con ~ y se rellena con holes
```

Código de programa 9. **Convierte la imagen en negativo y relleno de agujeros.**
Fuente. Elaboración propia

- **Remoción, dilatación, erosión y relleno de agujeros**

Este bloque es explicado en el acápite 4.2.5 e ilustrado en la Figura 69, el cual es ejecutado mediante el Código de programa 10.

```
BW_eq2= bwareaopen (BW_eq1,430); %remueve objetos de 430 pixeles.
se = strel('disk',7);
BW_er = imdilate(BW_eq2, se);  %dilatación de objetos
BW_er = imfill (BW_er,'holes'); %relleno de agujeros
se = strel('disk',1);
BW_er1 = imerode(BW_eq2,se);  %erosión de objetos
BW_er1 = imfill (BW_er,'holes'); %relleno de agujeros
```

Código de programa 10. **Remoción de objetos de la imagen, dilatación, erosión y relleno de agujeros**

Fuente. Elaboración propia

- **Conteo de células por estimación de áreas**

Mediante la ejecución de este bloque se realiza el conteo de los objetos de la imagen basado en la estimación de áreas de los objetos de la imagen, el método fue expuesto en el acápite 4.2 y realizado mediante el siguiente Código de programa 11.

```
for i=1:length(celulas)

    y=celulas(i).Area/1900; % se determina si hay más de una células
                            % se suma al acumulador
    suma=suma+round(y); % suma es el número de glóbulos rojos.
                        % funciona como acumulador
end
```

Código de programa 11. **Conteo de células por estimación de áreas**
Fuente. Elaboración propia

- **i=i+1**

Este bloque ejecuta el incremento del contador "i" de cuadriculas en una unidad.

- **S=S+N**

Este bloque ejecuta la suma de glóbulos rojos en la cuadriculas evaluadas, es de decir "S" es un acumulador de los valores de "N" que indica la cantidad de glóbulos rojos en cada cuadrícula procesada.

- **N=0**

Este bloque ejecuta la inicialización para un nuevo ciclo de conteo de glóbulos rojos en una cuadrícula. Luego el siguiente bloque es el Condicional i>5.

- **Número de glóbulos rojos, imprimir S**

En este bloque se imprime el resultado del conteo de glóbulos rojos en cada una de las cuadrículas, el total "S" y el resultado de número de glóbulos rojos por volumen y ejecuta mediante el Código de programa 12.

```
suma_gr=muestra1+muestra5+muestra13+muestra21+muestra25;
fd=1/200;%Factor de dilusión
x= (suma_gr*50)/fd; % glóbulos rojos/volumen
fprintf('==========================================');
fprintf('\nCONTEO DE GLÓBULOS ROJOS EN LAS 5 CUADRICULAS');
fprintf('\n==========================================');
fprintf('\n Cuadricula %i =  %f',1,muestra1);  % cd1=1 se cambio para
fprintf('\n Cuadrícula %i =  %f',5,muestra5);  % cd2=2
fprintf('\n Cuadricula %i =  %f',13,muestra13); % cd3=3
fprintf('\n Cuadricula %i =  %f',21,muestra21); % cd4=4
fprintf('\n Cuadricula %i =  %f',25,muestra25); % cd5=5
fprintf('\n\n==========================================');
fprintf('\n El total de glóbulos rojos =  %f',suma_gr);
fprintf('\n Factor de dilusión =  1/200');
fprintf('\n N° Glóbulos rojos/mm3 = %f',x );
fprintf('\n ==========================================\n');
```

Código de programa 12. **Imprime el resultado del conteo de glóbulos rojos**
Fuente. Elaboración propia

El cálculo de la cantidad de glóbulos rojos por unidad de volumen se expone en los siguientes párrafos. La entrada y salida del programa que implementa el algoritmo se presenta en la Figura 88.

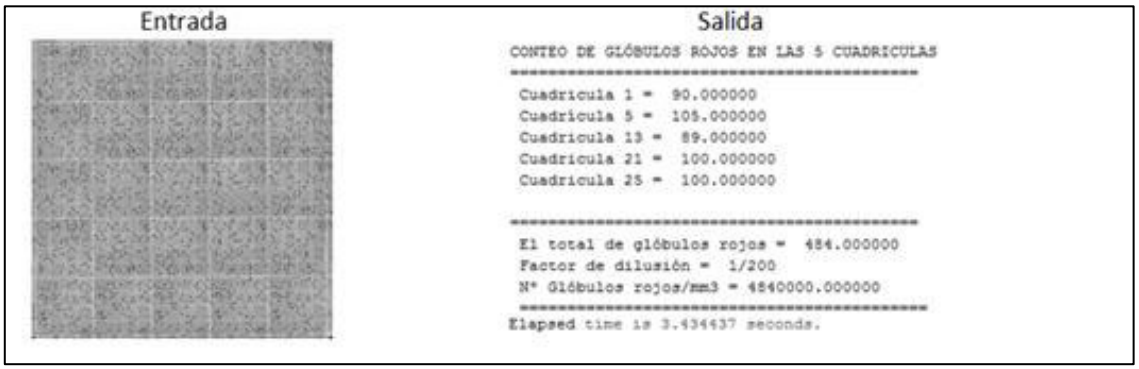


Figura 88 **La entrada presenta la imagen de la muestra de glóbulos rojos en la cámara de Neubauer presentada en cuadriculas y luego la salida muestra la imagen del resultado del conteo.**
Fuente: Elaboración propia

En la última línea del texto de salida del programa, se indica el parámetro "Elapsed time" que indica el tiempo de ejecución del programa. El cual se obtiene mediante la ejecución de los comandos: "tic" al inicio del Código de programa 31 del Anexo 1 y "toc" al final del mismo.

El Código de programa 31 del Anexo 1 presenta la codificación que permite ejecutar el algoritmo de conteo Basado en Áreas desarrollado en Matlab, que es el algoritmo elegido como método de conteo de glóbulos rojos. Asimismo, se presentan en el Cuadro 43 del Anexo 1 las **entradas** y **salidas** del algoritmo implementado.

Finalmente, una vez determinado el método de conteo de glóbulos rojos, se aplica el procedimiento para cada cuadricula y luego se aplica la formula mencionada en el acápite 4.1.

$$X = \frac{a \times 4000}{n} \times fd = GlobulosRojos / mm^3$$

Dónde:

a: Número total de glóbulos rojos en las cinco cuadriculas.
n: Número de cuadricula en este caso 5
fd: Factor de dilución en este caso 1/200.
X= Número de glóbulos rojos por milímetro cubico.

El tiempo promedio de conteo de glóbulos rojos, mediante el algoritmo basado en el método basado en la estimación de áreas se presenta en el Cuadro 8.

Cuadro 8 **Tiempo promedio mediante el algoritmo diseñado para el conteo de glóbulos rojos y el conteo manual**

Parámetros		Conteo de G. Rojos
Resolución de imagen		1920x1080 pixeles
Profundidad de la imager		24 bits
Aumento microcopio		40x
Reactivo		Hayen fd=1/200
Nivel de iluminación		1700 lúmenes
Nª cel	CM(seg.)	AD(seg.)
484	269	3.43
483	266.7	3.32
485	269.55	3.27
489	277.05	3.25
490	273.25	3.55
490	280.4	3.45
494	291.45	3.34
501	303.2	3.26
499	280.9	3.58
502	314.15	3.30
500	295.4	3.31
485	291.25	3.18
489	300.5	3.27
487	254.4	3.22
500	310.7	3.27
477	224.4	3.24
493	292.3	3.29
494	299.55	3.24
503	305.2	3.29
504	311.25	4.01
485	276.35	3.48
489	283.65	3.80
508	317.5	3.60
505	322.35	4.07
500	297.8	3.87
500	293.2	3.62
509	314.05	3.69
492	279.4	3.84
489	277.25	3.80
484	264.4	3.87
Promedio	287.885	3.49
CM= Conteo manual AD= Algoritmo Diseñado		

Fuente: Elaboración propia

En el Cuadro 8 se aprecia el valor del tiempo promedio de conteo manual de 287.885 segundos frente al promedio de 3.49 segundos, mediante el algoritmo diseñado. En el Anexo 1 se presenta el Cuadro 43 de donde se ha recopilado los tiempos de ejecución del programa del Algoritmo diseñado, específicamente del parámetro "Elapsed time" del reporte de salida de cada conteo.

4.6. Conteo de glóbulos blancos

Para el proceso de conteo de glóbulos blancos se considera dos formas de realizarlo; el primero se refiere al conteo total de glóbulos blancos y el segundo se refiere al conteo diferenciado. El conteo diferenciado se refiere, conteo de glóbulos blancos considerando el tipo de glóbulo blanco es decir si se trata de un Neutrófilo, Monocito, Basófilo, Linfocito y Eusinófilo. Por tanto, se debe primero clasificar el

glóbulo blanco antes de proceder al conteo. Con este propósito se propone ciertos parámetros que se deben considerar para clasificar los globulosa blancos, mediante el método de procesamiento digital de imágenes. En este trabajo se plantea dos procedimientos: el primero está basado en las Redes Neuronales y el segundo mediante el método propuesto en esta tesis, es el denominado Método de máximos y mínimos. Luego, se evalúa los métodos de conteo de glóbulos blancos en el ítem 4.9. Finalmente, se implementa el algoritmo que permite el el conteo diferenciado de glóbulos blancos

Previo al proceso de captación de la imagen necesaria para el conteo de glóbulos rojos se procede a explicar el procedimiento para la observación de los glóbulos blancos por el microscopio.

El procedimiento de preparación de la muestra de sangre para el conteo diferenciado de glóbulos blancos se aborda a continuación.

Los materiales necesarios para obtener las muestras de células ver Figura 89 son un frotis sanguíneo como se observa en la Imagen 1, el cual debe ser cubierto por una gota de colorante para la tinción de los glóbulos blancos, y luego cubierto con un portaobjeto como se observa en la Imagen 2. Luego, lavar con un chorro de agua, para finalmente realizar el secado del portaobjeto como se observa en la Imagen 3.

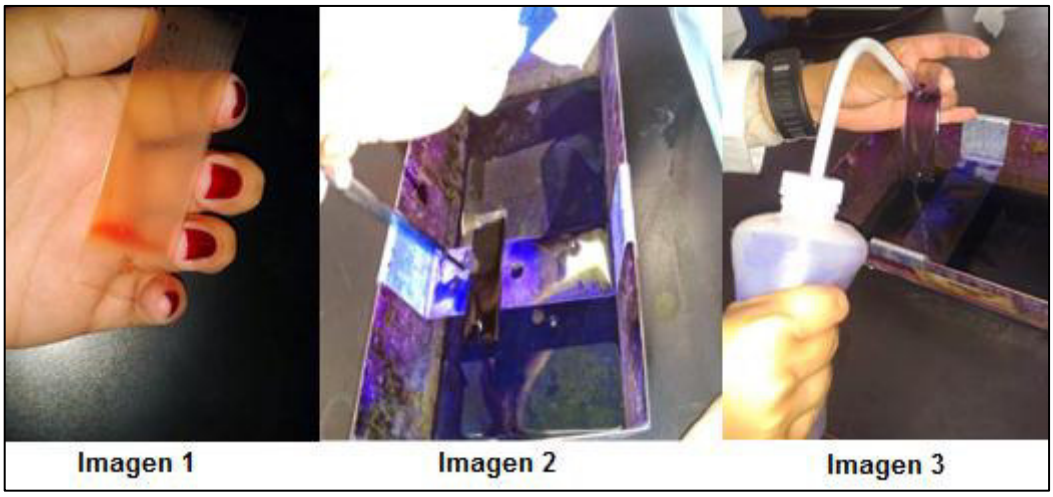


Figura 89. **Preparación de la muestra, para el conteo de glóbulos blancos**.
Fuente. Elaboración propia.

A continuación se expone el método del conteo diferenciado de glóbulos blancos mediante el Procesamiento digital de señales.

4.7. Procesamiento digital de imágenes para el conteo diferenciado de glóbulos blancos

En el procesamiento digital de imágenes para el conteo diferenciado de glóbulos blancos, las etapas de captación, procesamiento de bajo nivel y procesamiento de nivel medio, son etapas comunes, para los métodos analizados del conteo diferenciado, que son:

- El método basado en las Redes Neuronales Artificiales
- El método de Máximos y Mínimos.

A continuación se detallará cada uno de estas etapas mencionadas.

4.7.1. Captación

Esta etapa consiste en captar la imagen a procesar para efectos del conteo diferenciado, la cual es capturada por un microscopio con un aumento de 100X tal como se observa en la Figura 90, en la cual se observa varios leucocitos.

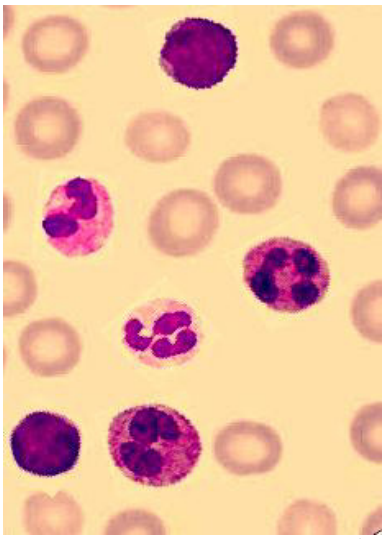


Figura 90. **Imagen captada de glóbulos blancos.**
Fuente. Elaboración propia.

4.7.2. Conversión a niveles de gris

En esta etapa la imagen captada a colores es convertida a una imagen de niveles gris en la que el valor de cada pixel varía desde 0 que corresponde al nivel de gris de color negro hasta 255 que corresponde al color blanco. Es decir en términos de brillo de la imagen es de oscuro hasta la máxima brillantez que el color blanco. El resultado de esta etapa se puede observar en la Figura 91.

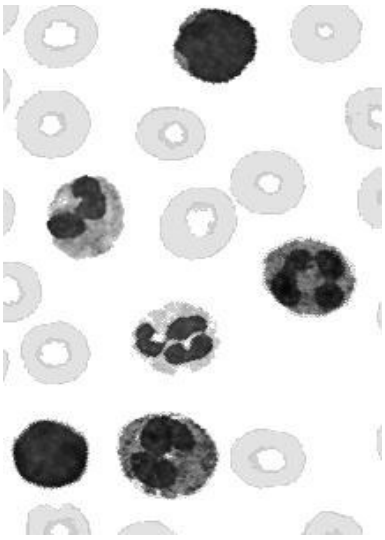


Figura 91. **Imagen captada en niveles de grises.**
Fuente. Elaboración propia.

4.7.3. Segmentación

Este proceso consiste en separar los objetos de interés de la imagen de niveles de gris, que este caso son los leucocitos, mediante un proceso de umbralización, que se refiere a determinar un nivel de gris a partir del cual para los niveles superiores se considera nivel de gris para cada pixel, el color negro y para niveles inferiores al del umbral el color blanco, como resultado de este proceso se obtiene la imagen de la Figura 92.

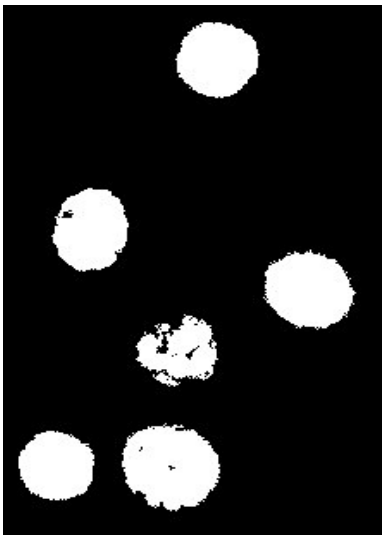


Figura 92. **Imagen segmentada de la imagen captada**.
Fuente. Elaboración propia.

4.7.4. Erosión y dilatación

Mediante este proceso el área de los objetos se delimita mejor para un posterior análisis, en este caso de los leucocitos. Este proceso consiste en la dilatación, el cual permite agregar más pixeles en todos los bordes o cambios de nivel de gris, desapareciendo los agujeros y definiendo más los bordes de cada objeto. Luego se realiza una erosión, lo cual significa una reducción de los bordes para restablecer la dimensión de las áreas originales. El resultado de este proceso se observa en la Figura 93.

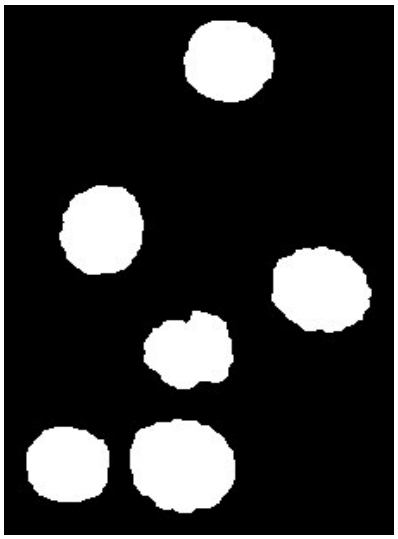


Figura 93 .**Imagen segmentada luego de la dilatación y erosión**.
Fuente. Elaboración propia.

4.7.5. Detección de bordes

Una vez definido los objetos de interés de la imagen a ser analizada, procede al proceso de detección de borde lo cual significa determinar los pixeles del objeto de una imagen donde se produce un cambio de nivel de gris, tal como se observa en la Figura 94. Los bordes nos permitirán determinar el perímetro de los objetos o leucocitos. El operador de Canny se usó en esta aplicación.

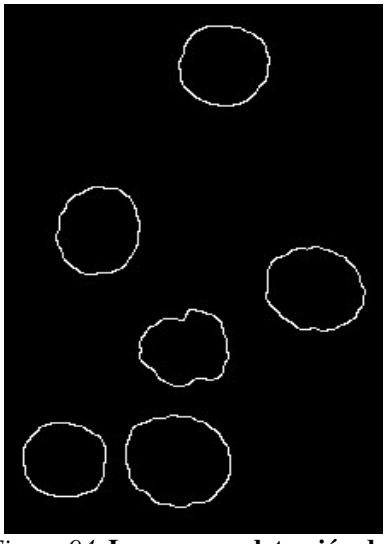


Figura 94. **Imagen con detección de bordes.**
Fuente. Elaboración propia.

4.7.6. Recorte de las imágenes de cada leucocito

Una vez que se obtienen los objetos de interés segmentados tal como se observa en la Figura 93, se procede al recorte considerando un cuadrilátero rectangular que contenga al objeto en este caso el leucocito, se consigue como referencia la posición de los pixeles de la imagen segmentada de la Figura 92, con referencia a la imagen de la Figura 90, imagen a ser analizada en colores o imagen captada. Luego se realiza el recorte de cada leucocito, tal como se presenta en la Figura 95. En la que se observa cada uno de los leucocitos recortados, como nuevas imágenes a ser estudiadas con fines de identificación y posterior clasificación. Previamente, la imagen de la Figura 93 es etiquetada y luego a partir de ello se obtiene el total de objetos, es decir los leucocitos como se presenta en la Figura 95.

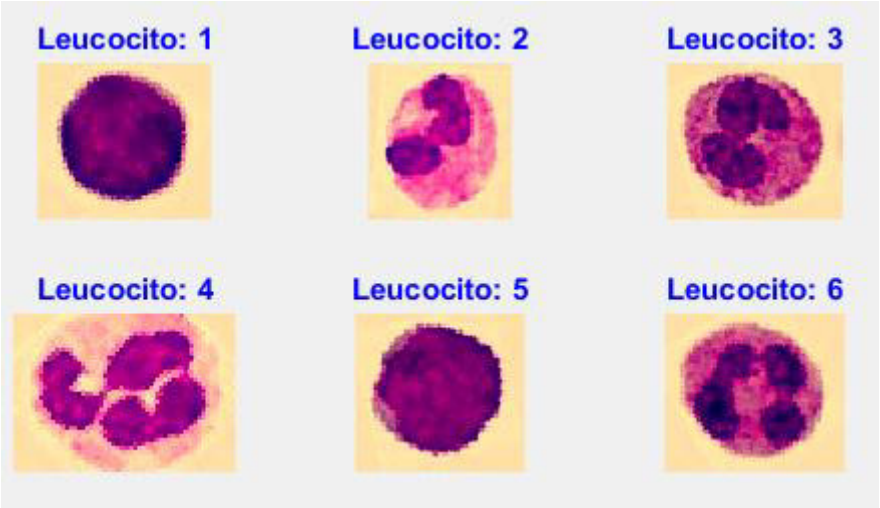


Figura 95. **Imágenes de los leucocitos recortadas de la imagen captada.**
Fuente. Elaboración propia.

4.7.7. Segmentación de la Célula por Histograma

Para explicar este procedimiento de análisis de la imagen de un leucocito se toma como ejemplo el análisis de la imagen del leucocito 2. Se procede a segmentar solamente la célula, mediante el análisis del histograma de la imagen del leucocito Nº 2 de la Figura 95 en niveles de gris. El resultado se observa en la Figura 96. Para realizar la segmentación se considera los niveles de gris desde 42 hasta 200. Todos estos pixeles son reemplazados por el pixel 255 que corresponde al color blanco y el resto se considera con el valor 0 que corresponde al color negro, el resultado se observa en la imagen de la Figura 97.

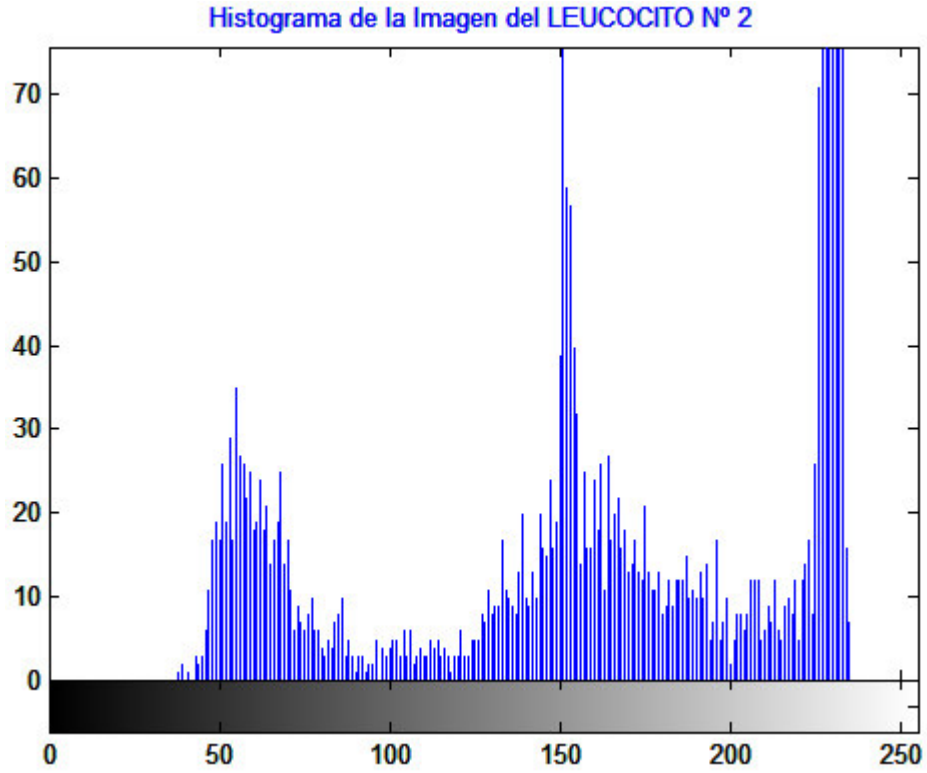


Figura 96. **Histograma de la imagen del leucocito 2**.
Fuente. Elaboración propia.

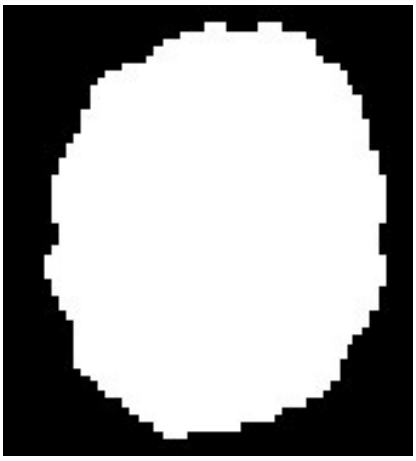


Figura 97. **Imagen segmentada del leucocito 2.**
Fuente. Elaboración propia.

4.7.8. Segmentación del núcleo por Histograma

Para segmentar el núcleo del leucocito se procede a considerar todos lo pixeles correspondiente al rango de 42 hasta 96 del histograma de la Figura 96. Es decir solo considerar los pixeles hasta el primer valle del histograma. De igual forma en este caso los pixeles correspondientes al rango mencionado se cambian al valor de 255 correspondiente al color blanco y el resto de pixeles se le asigna el color negro es decir el valor 0. El resultado de la segmentación del leucocito 2 se obtiene la imagen de la Figura 98.

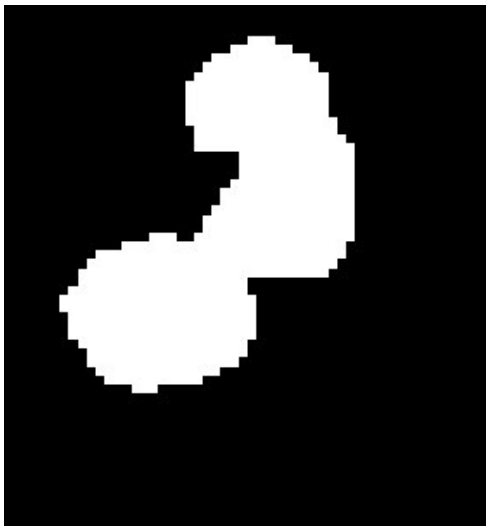


Figura 98. **Imagen segmentada del núcleo del leucocito 2**.
Fuente. Elaboración propia

4.7.9. Segmentación del Citoplasma por Histograma

Para lograr la segmentación del citoplasma del leucocito se aplica un procedimiento de resta de imágenes, en este caso se resta de la imagen de la Figura 97, la imagen de la Figura 98, para obtener la imagen de la Figura 99, donde la parte de nivel de gris blanco corresponde al citoplasma de la célula procesada.

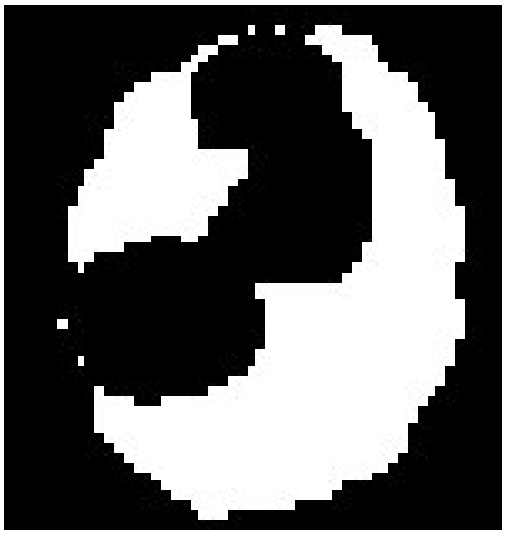


Figura 99. **Imagen segmentada del citoplasma del leucocito 2**.
Fuente. Elaboración propia.

4.7.10. Detección de un Eusinófilo mediante el modelo de color HSV

Este procedimiento se emplea para analizar el núcleo del leucocito y determinar si se trata de un Eusinófilo, debido a que este leucocito presenta su núcleo una coloración especial. Para determinar si la coloración del núcleo corresponde a un Eusinófilo, se procede a cambiar el modelo de color de la imagen a color del leucocito al modelo

HSV, abordado en el acápite 2.4.2.2, lo que permite representar el color con un índice que está entre 0 a 1, en este caso el índice a evaluar es si el color está por encima del índice 0.88 que es el índice a partir del cual corresponde al color de núcleo de un Eusinófilo. En la imagen de la Figura 100 se representa la imagen a color del Leucocito 2 en el modelo de color HSV.

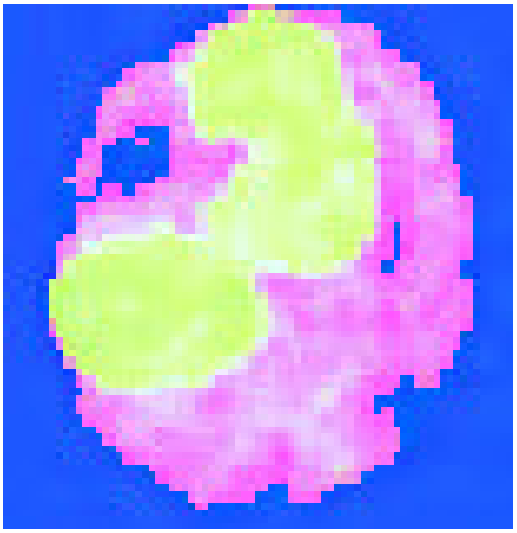


Figura 100. **Imagen del leucocito 2 en colores HSV**.
Fuente. Elaboración propia.

4.7.11. Detección de un Neutrófilo mediante la Transformada de Hough

Este procedimiento consiste en aplicar a la imagen de la Figura 98 el algoritmo basado en la Transformada de Hough para determinar el número círculos, estimando que los lóbulos son círculos y que a partir del número mínimo de lóbulos es posible indicar si la célula es un Neutrófilo, en este caso el mínimo es 2 para indicar si se trata de un Neutrófilo. Esta técnica se caracteriza por ubicar los centros de los círculos detectados, dando dos tipos de información: la ubicación de los centros y el número de centros que nos indica el número de círculos o lóbulos en este caso. Previamente es necesario aplicar a la imagen de la

Figura 98, la detección de bordes mediante el operador de Canny y luego aplicar la Transformada de Hough. Finalmente los centros detectados como se observa en la Figura 101.

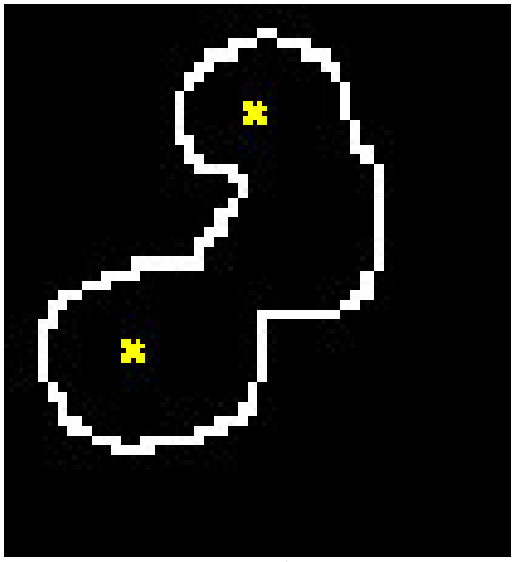


Figura 101. **Imagen del núcleo de leucocito2 con detección de lóbulos**.
Fuente. Elaboración propia.

4.8. Descriptores para la identificación de los leucocitos

Los descriptores son obtenidos de las imágenes de los cinco tipos de leucocitos que se han estudiado como son: Basófilo, Eusinófilo, Linfocito, Monocito y Neutrófilo. Estos, han sido extraídos de diez imágenes de cada tipo de leucocito.

4.8.1. Área de la célula

El área de la célula es determinada a partir de la imagen de la Figura 97, donde el programa cuenta los pixeles con nivel de gris 255 de color blanco que son los que conforman el cuerpo entero de la célula. La cantidad total de pixeles de 255 nos da el parámetro del área. El área se mide en función del número de pixeles que tiene la célula de la imagen.

4.8.2. Área del núcleo

El área del núcleo se determina a partir de la imagen de la Figura 98, donde el programa cuenta los pixeles con nivel 255, que corresponde al color blanco. La cantidad total de pixeles, resulta ser área del núcleo.

4.8.3. Asimetría

Se analiza el histograma de la célula considerando la delimitación de su imagen, presentada en la Figura 96, referenciando a la imagen de nivel de gris, es decir la evaluación de cada pixel de la célula. Luego, este descriptor indica si los niveles de gris en el espectrograma están concentrados hacia la izquierda si el resultado es negativo, si están concentrados hacia la derecha el valor del descriptor será positivo; finalmente, si el valor del descriptor es cero entonces el espectrograma es simétrico.

4.8.4. Compacidad

Mediante este descriptor se analiza si se aproxima a 1 entonces la forma de la imagen de la célula es circular y cuando el valor se aleja de 1 se dice que la forma del objeto es menos circular, para calcular este descriptor es necesario determinar, el perímetro de la célula y el área de la célula.

4.8.5. Desviación estándar

Se calcula a partir de los niveles de gris de los pixeles de la imagen de la célula, es la medida del contraste medio o dispersión de los niveles de gris de la imagen.

4.8.6. Entropía de la célula

Representa la mayor o menor de diversidad de niveles de gris de los pixeles de la imagen de la célula.

4.8.7. Número de Euler

Representa el número de agujeros que presenta la célula, pero el resultado en los descriptores de las células se obtiene el valor de 1, lo cual indica que las células presentan un solo agujero.

4.8.8. Curtosis

Este descriptor nos indica si la célula presenta un histograma, con tendencia hacia arriba, medio o bajo, el cual es representado mediante un descriptor.

4.8.9. Media de la célula

Se calcula a partir de los niveles de gris de los pixeles de la imagen de la célula.

4.8.10. Porcentaje del área del núcleo

Considerando que ya se calculó el área total de la célula y del núcleo, se procede a determinar el porcentaje del área total de la célula representa el área del núcleo.

4.8.11. Perímetro

Este descriptor se calcula a partir de los bordes de la imagen, determinando la cantidad de pixeles que tiene la célula para determinarlo.

4.8.12. Media del citoplasma

Se calcula la media de los pixeles del citoplasma de la célula.

4.9. Métodos para el conteo diferenciado de glóbulos blancos

Se presenta dos métodos de conteo diferenciado que luego son analizados para determinar, el método para considerar en el análisis propuesta en la presente tesis. Los métodos a ser analizados son:

- El método de conteo diferenciado mediante redes neuronales artificiales
- El método de conteo diferenciado desarrollado máximos y mínimos.

4.9.1. Método de conteo diferenciado mediante redes neuronales artificiales

Este método está basado en el empleo de la Red Neuronal Artificial tipo Backpropagatión. Para implementar este clasificador, es necesario dos fases en el proceso de reconocimiento de un tipo de leucocito:

- Fase de entrenamiento de la red neuronal artificial.
- Fase de reconocimiento de patrones.

La fase de entrenamiento consiste en que la red neuronal, mediante los patrones de referencia de 12 descriptores de los leucocitos, asigna una correspondiente salida, por tanto, a cada patrón de la red neuronal le corresponde una salida, esperada. En la Figura 102 se ilustra esta fase.

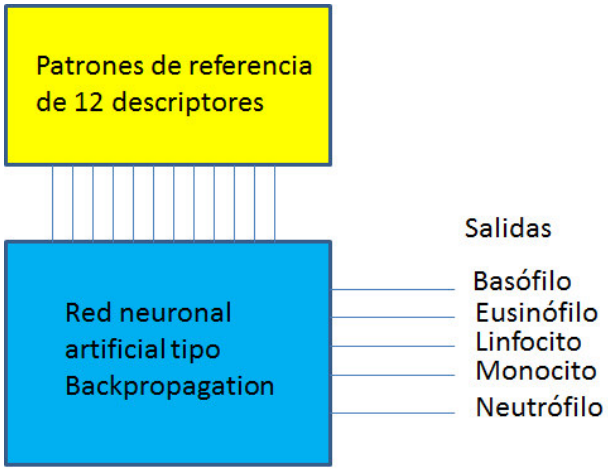


Figura 102. **Fase de entrenamiento de la Red Neuronal artificial**.
Fuente. Elaboración propia.

Para efectos del método se presenta los descriptores obtenidos para los patrones establecidos según tipo de leucocito en los cuadros siguientes.

Cuadro 9. **Descriptores del leucocito Basófilo.**

Leucocito	Basófilo1	Basófilo2	Basófilo3	Basófilo4	Basófilo5	Basófilo6	Basófilo7	Basófilo8	Basófilo9	Basófilo10
Área de célula	1950.0000	2081.0000	2054.0000	1743.0000	2111.0000	2369.0000	1406.0000	896.0000	1037.0000	1850.0000
Área de núcleo	1836.0000	1947.0000	1833.0000	425.0000	1819.0000	2115.0000	1213.0000	811.0000	896.0000	1264.0000
Asimetría	1.1294	1.9538	2.2201	0.0210	0.9990	1.5150	2.4035	3.1333	2.5174	1.3026
Compacidad	1.1375	1.1974	1.1355	1.1813	1.1371	1.1599	1.1740	1.1186	1.0984	1.1292
Desv. Estándar	17.1600	19.9695	26.4024	29.1237	27.6106	26.2817	30.2537	15.4061	21.4560	46.4632
Entropía	5.9370	6.0145	6.2081	6.7576	6.5857	6.3818	5.9323	5.4186	5.5716	5.8002
Euler	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
Curtosis	6.3712	9.8206	9.3735	2.6682	4.0988	6.3925	8.7108	20.6896	9.6060	3.0035
Media de célula	66.1328	66.0927	69.4654	124.6558	72.4794	70.7218	43.4211	48.2508	60.1234	115.4368
Porc. de núcleo	94.1538	93.5608	89.2405	24.3832	86.1677	89.2782	86.2731	90.5134	86.4031	68.3243
Perímetro	166.9533	176.9533	171.1960	160.8528	173.6812	185.8234	144.0244	112.2254	119.6396	162.0244
Media citplasma	101.5351	113.6912	125.3439	136.7269	118.4349	126.6142	108.0259	72.7326	101.7163	173.0205

Fuente. Elaboración propia.

Cuadro 10. **Descriptores del leucocito Eusinófilo.**

Leucocito	Eusinófilo1	Eusinófilo2	Eusinófilo3	Eusinófilo4	Eusinófilo5	Eusinófilo6	Eusinófilo7	Eusinófilo8	Eusinófilo9	Eusinófilo10
Área de célula	1565.0000	1814.0000	2046.0000	2201.0000	1854.0000	1815.0000	1958.0000	2123.0000	2066.0000	1330.0000
Área de núcleo	905.0000	1039.0000	959.0000	797.0000	714.0000	1559.0000	1828.0000	1050.0000	656.0000	1133.0000
Asimetría	0.4438	0.7225	0.3629	-0.3549	-0.0041	2.2877	1.7016	0.9137	0.4143	1.7652
Compacidad	1.3005	1.3910	1.1057	1.1339	1.4860	1.1761	1.1235	1.1244	1.1244	1.3979
Desv. Estándar	39.8186	37.6386	44.8500	53.7560	56.1643	27.0710	17.9325	30.1700	29.6459	29.9844
Entropía	6.4679	6.5180	7.0706	6.7509	7.0286	6.2374	5.9202	6.6886	6.7708	5.9857
Euler	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
Curtosis	1.6194	2.1716	1.9160	1.4005	1.3409	10.6150	9.6982	3.3537	2.8021	5.3619
Media de célula	93.3859	87.8743	76.5381	116.3553	133.0690	78.0463	53.5996	97.4969	118.0944	62.6932
Porc. de núcleo	57.8275	57.2767	46.8719	36.2108	38.5113	85.8953	93.3606	49.4583	31.7522	85.1880
Perímetro	159.9239	178.0660	168.6102	177.0955	186.0660	163.7817	166.2670	173.1960	170.8528	152.8528
Media citplasma	136.3470	126.3742	113.1730	154.1966	171.0806	126.9609	92.3231	119.0447	132.8411	122.8223

Fuente. Elaboración propia.

Cuadro 11. **Descriptores del leucocito Linfocito.**

Leucocito	Linfocito1	Linfocito2	Linfocito3	Linfocito4	Linfocito5	Linfocito6	Linfocito7	Linfocito8	Linfocito9	Linfocito10
Área de célula	1560.0000	1618.0000	2004.0000	2125.0000	1394.0000	1894.0000	2064.0000	1430.0000	1745.0000	1920.0000
Área de núcleo	1298.0000	1346.0000	1291.0000	747.0000	545.0000	1797.0000	1063.0000	1334.0000	950.0000	799.0000
Asimetría	2.5207	2.2280	0.7400	-0.4533	-0.0137	2.4733	0.7446	2.3252	0.5998	0.0665
Compacidad	1.1534	1.1988	1.1704	1.1296	1.7036	1.1595	1.1177	1.1334	1.3441	1.1197
Desv. Estándar	30.2750	30.7745	34.6592	54.9120	63.7892	19.5278	30.5732	13.6570	49.9151	48.6800
Entropía	5.9057	5.7998	6.2702	6.6979	6.7410	5.8582	6.7359	5.4102	6.8907	6.7523
Euler	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
Curtosis	9.5372	7.3260	2.0497	1.4719	1.1933	12.8025	2.8957	14.9653	1.8933	1.3458
Media de célula	49.4103	88.5185	83.4047	125.1774	140.4237	51.2482	106.0887	64.9049	93.7507	129.0208
Porc. de núcleo	83.2051	83.1891	64.4212	35.1529	39.0961	94.8786	51.5019	93.2867	54.4413	41.6146
Perímetro	150.3675	156.1249	171.6812	173.6812	172.7523	166.1249	170.2670	142.7107	171.6812	164.3675
Media citplasma	102.5420	144.8566	126.9271	163.7344	183.8200	109.4742	130.6573	92.4688	141.6478	165.3265

Fuente. Elaboración propia.

Cuadro 12. **Descriptores del leucocito Monocito**

Leucocito	Monocito1	Monocito2	Monocito3	Monocito4	Monocito5	Monocito6	Monocito7	Monocito8	Monocito9	Monocito10
Área de célula	1942.0000	2101.0000	2207.0000	1894.0000	1532.0000	1739.0000	2144.0000	1532.0000	1580.0000	1602.0000
Área de núcleo	1786.0000	869.0000	1648.0000	909.0000	529.0000	1586.0000	824.0000	1110.0000	654.0000	884.0000
Asimetría	1.7595	0.7040	1.4822	0.4251	-0.2557	2.8641	0.3463	1.3796	0.6400	0.7108
Compacidad	1.1928	1.1489	1.1141	1.2215	1.3619	1.1683	1.1892	1.5371	1.5218	1.1298
Desv. Estándar	24.8113	33.4383	38.4716	39.6404	55.0457	22.5365	34.4562	39.0788	49.9974	46.8993
Entropía	6.3108	6.8127	6.2585	6.7544	6.6646	5.9093	6.8221	6.0035	6.7804	6.8802
Euler	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
Curtosis	8.6055	2.6370	4.0504	1.8690	1.2804	15.0938	2.1190	3.4132	1.7978	2.1713
Media de célula	61.9660	112.2918	73.1935	98.1758	143.2272	65.8620	117.7710	103.0516	127.6019	98.3265
Porc. de núcleo	91.9670	41.3613	74.6715	47.9937	34.5300	91.2018	38.4328	72.4543	41.3924	55.1810
Perímetro	170.6102	174.1665	175.7817	170.5097	161.9239	159.7817	178.9949	172.0244	173.8234	150.8112
Media citplasma	117.7115	133.3969	131.9374	130.7959	177.6421	111.1699	139.7833	159.2299	156.7948	143.2618

Fuente. Elaboración propia.

Cuadro 13. **Descriptores del leucocito Neutrófilo**

Leucocito	Neutrófilo1	Neutrófilo2	Neutrófilo3	Neutrófilo4	Neutrófilo5	Neutrófilo6	Neutrófilo7	Neutrófilo8	Neutrófilo9	Neutrófilo10
Área de célula	2036.0000	2114.0000	1814.0000	1820.0000	1241.0000	2036.0000	2247.0000	2163.0000	2165.0000	1872.0000
Área de núcleo	1785.0000	889.0000	1568.0000	1277.0000	673.0000	1936.0000	829.0000	1462.0000	1184.0000	659.0000
Asimetría	1.9414	0.8859	2.7093	1.2899	0.4618	1.3772	0.8399	1.0074	0.6226	-0.2981
Compacidad	1.1176	1.1554	1.1070	1.1231	2.3427	1.1221	1.2604	1.1570	1.1088	1.4516
Desv. Estándar	24.7664	33.8286	27.5262	30.6845	61.3198	16.3893	33.6504	42.2183	36.5411	58.2250
Entropía	6.1347	6.7695	5.6576	6.3533	6.6332	5.8415	6.8135	6.2745	6.5098	6.7821
Euler	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
Curtosis	7.5262	3.0603	10.8466	3.8235	1.4309	6.5602	3.3886	2.5562	1.9543	1.3282
Media de célula	75.0786	86.2753	58.4377	94.5225	120.1640	62.3094	81.8051	74.0125	85.1695	144.6303
Porc. de núcleo	87.6719	42.0530	86.4388	70.1648	54.2305	95.0884	36.8936	67.5913	54.6882	35.2030
Perímetro	169.0955	175.1960	158.8528	160.2670	191.1371	169.4386	188.6518	177.3381	173.6812	184.7939
Media citplasma	125.8247	107.2457	116.8211	134.5046	179.2067	102.8400	100.6812	130.5606	120.4485	183.2498

Fuente. Elaboración propia.

A continuación se presenta el Cuadro 14, los patrones de referencia según la información de los cuadros precedentes.

Cuadro 14. ***Patrones de entrada de los 12 descriptores***

Entrada	B1	B2	B3	E1	E2	E3	L1	L2	L3	M1	M2	M3	N1	N2	N3	B4	B5	E4	E5	L4	L5	M4	M5	N4	N5	B6	E6	L6	M6	N6	B7	E7	L7	M7	N7	B8	E8	L8	M8	N8	B9	E9	L9	M9	N9	B10	E10	L10	M10	N10
Área de célula	B1	B2	B3	E1	E2	E3	L1	L2	L3	M1	M2	M3	N1	N2	N3	B4	B5	E4	E5	L4	L5	M4	M5	N4	N5	B6	E6	L6	M6	N6	B7	E7	L7	M7	N7	B8	E8	L8	M8	N8	B9	E9	L9	M9	N9	B10	E10	L10	M10	N10
Área de núcleo	B1	B2	B3	E1	E2	E3	L1	L2	L3	M1	M2	M3	N1	N2	N3	B4	B5	E4	E5	L4	L5	M4	M5	N4	N5	B6	E6	L6	M6	N6	B7	E7	L7	M7	N7	B8	E8	L8	M8	N8	B9	E9	L9	M9	N9	B10	E10	L10	M10	N10
Asimetría	B1	B2	B3	E1	E2	E3	L1	L2	L3	M1	M2	M3	N1	N2	N3	B4	B5	E4	E5	L4	L5	M4	M5	N4	N5	B6	E6	L6	M6	N6	B7	E7	L7	M7	N7	B8	E8	L8	M8	N8	B9	E9	L9	M9	N9	B10	E10	L10	M10	N10
Compacidad	B1	B2	B3	E1	E2	E3	L1	L2	L3	M1	M2	M3	N1	N2	N3	B4	B5	E4	E5	L4	L5	M4	M5	N4	N5	B6	E6	L6	M6	N6	B7	E7	L7	M7	N7	B8	E8	L8	M8	N8	B9	E9	L9	M9	N9	B10	E10	L10	M10	N10
Desv. Estándar	B1	B2	B3	E1	E2	E3	L1	L2	L3	M1	M2	M3	N1	N2	N3	B4	B5	E4	E5	L4	L5	M4	M5	N4	N5	B6	E6	L6	M6	N6	B7	E7	L7	M7	N7	B8	E8	L8	M8	N8	B9	E9	L9	M9	N9	B10	E10	L10	M10	N10
Entropía	B1	B2	B3	E1	E2	E3	L1	L2	L3	M1	M2	M3	N1	N2	N3	B4	B5	E4	E5	L4	L5	M4	M5	N4	N5	B6	E6	L6	M6	N6	B7	E7	L7	M7	N7	B8	E8	L8	M8	N8	B9	E9	L9	M9	N9	B10	E10	L10	M10	N10
Euler	B1	B2	B3	E1	E2	E3	L1	L2	L3	M1	M2	M3	N1	N2	N3	B4	B5	E4	E5	L4	L5	M4	M5	N4	N5	B6	E6	L6	M6	N6	B7	E7	L7	M7	N7	B8	E8	L8	M8	N8	B9	E9	L9	M9	N9	B10	E10	L10	M10	N10
Curtosis	B1	B2	B3	E1	E2	E3	L1	L2	L3	M1	M2	M3	N1	N2	N3	B4	B5	E4	E5	L4	L5	M4	M5	N4	N5	B6	E6	L6	M6	N6	B7	E7	L7	M7	N7	B8	E8	L8	M8	N8	B9	E9	L9	M9	N9	B10	E10	L10	M10	N10
Media de célula	B1	B2	B3	E1	E2	E3	L1	L2	L3	M1	M2	M3	N1	N2	N3	B4	B5	E4	E5	L4	L5	M4	M5	N4	N5	B6	E6	L6	M6	N6	B7	E7	L7	M7	N7	B8	E8	L8	M8	N8	B9	E9	L9	M9	N9	B10	E10	L10	M10	N10
Porc. de núcleo	B1	B2	B3	E1	E2	E3	L1	L2	L3	M1	M2	M3	N1	N2	N3	B4	B5	E4	E5	L4	L5	M4	M5	N4	N5	B6	E6	L6	M6	N6	B7	E7	L7	M7	N7	B8	E8	L8	M8	N8	B9	E9	L9	M9	N9	B10	E10	L10	M10	N10
Perímetro	B1	B2	B3	E1	E2	E3	L1	L2	L3	M1	M2	M3	N1	N2	N3	B4	B5	E4	E5	L4	L5	M4	M5	N4	N5	B6	E6	L6	M6	N6	B7	E7	L7	M7	N7	B8	E8	L8	M8	N8	B9	E9	L9	M9	N9	B10	E10	L10	M10	N10
Media citplasma	B1	B2	B3	E1	E2	E3	L1	L2	L3	M1	M2	M3	N1	N2	N3	B4	B5	E4	E5	L4	L5	M4	M5	N4	N5	B6	E6	L6	M6	N6	B7	E7	L7	M7	N7	B8	E8	L8	M8	N8	B9	E9	L9	M9	N9	B10	E10	L10	M10	N10

Donde: B1 a B10 representan los descriptores respectivos de los Basófilos
E1 a E10 representan los descriptores respectivos de los Eusinofilos
L1 a L10 representan los descriptores respectivos de los Linfocitos
M1 a M10 representan los descriptores respectivos de los Monocitos
N1 a N10 representan los descriptores respectivos de los Neutrófilos

Fuente. Elaboración propia.

En el Cuadro 15 de la salida de la red neuronal artificial en la siguiente tabla donde se observa 50 posibles salidas para 50 patrones, tal como se observa en la tabla anterior. Se establece el mecanismo de aprendizaje Supervisado tratado en el acápite 2.4.5 página 82, debido a que se establece la salida antes del proceso de reconocimiento.

Cuadro 15. **Patrones de salida de la red neuronal artificial**

Salidas	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
Basófilo	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Eusinofilo	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0
Linfocito	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0
Monocito	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0
Neutrófilo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
Patrón	B1	B2	B3	E1	E2	E3	L1	L2	L3	M1	M2	M3	N1	N2	N3	B4	B5	E4	E5	L4	L5	M4	M5	N4	N5	B6	E6	L6	M6	N6	B7	E7	L7	M7	N7	B8	E8	L8	M8	N8	B9	E9	L9	M9	N9	B10	E10	L10	M10	N10

Fuente. Elaboración propia.

La fase de reconocimiento consiste en tener a la entrada de la red las características del leucocito a ser analizado. Luego la red una vez obtenida esta información procede a realizar el proceso de reconocimiento mediante el método de Backpropagation, para finalmente activar una de las salidas establecidas de acuerdo al patrón de

entrenamiento descrito en la fase anterior. En la Figura 103 se puede observar la implementación de esta fase.

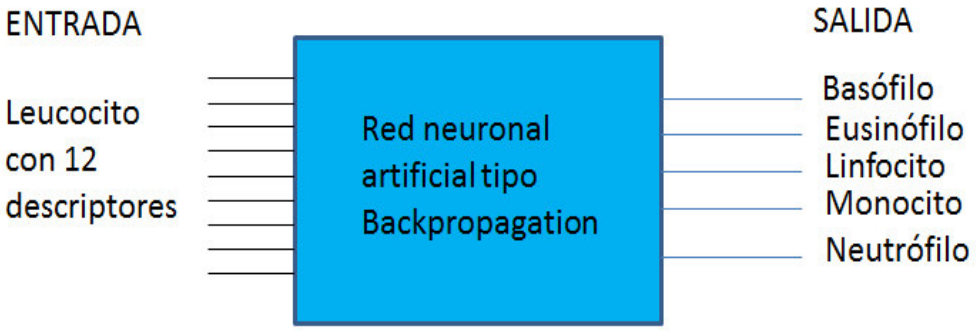


Figura 103. **Fase de reconocimiento de la Red Neuronal Artificial**.
Fuente. Elaboración propia.

En la Figura 103, no se observan los patrones de referencia debido a que en esta fase, estos se encuentran almacenadas en la memoria de la red neuronal artificial y establecida las salidas para cada patrón de entrada.

4.9.1.1. Procedimiento de la aplicación del método de conteo diferenciado mediante redes neuronales artificiales

El algoritmo que representa el proceso de conteo mediante redes neuronales artificiales tipo Backpropagation, se observa en la imagen de la Figura 104.

El Código de programa 34 del Anexo 1 presenta la codificación que permite ejecutar el algoritmo de conteo basado en Redes Neuronales Artificiales desarrollado en Matlab y cuya descripción de cada bloque se realiza previa indicación de los materiales necesarios para su implementación.

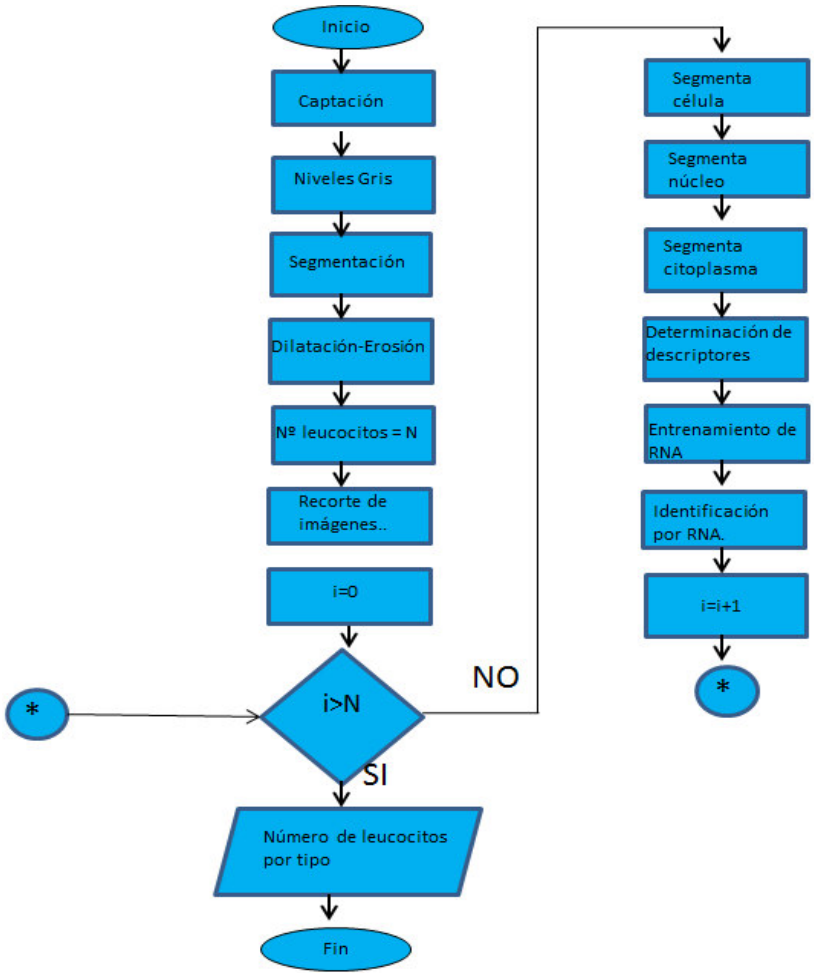


Figura 104. **Algoritmo del procedimiento de conteo de glóbulos blancos mediante Redes Neuronales Artificiales, el código fuente se presenta en el Código de programa 34 del Anexo 1 y en el Cuadro 44 del mismo anexo, sus entradas y salidas.**
Fuente. Elaboración propia.

En la Figura 104, se puede observar el diagrama de flujo del Método de conteo diferenciado mediante redes neuronales artificiales.

Los materiales necesarios para realizar el procedimiento para la implementación del Método de conteo diferenciado mediante redes neuronales artificiales son los siguientes:

1. Microscopio con cámara de video instalado.
2. Un cable USB de conexión entre la cámara y la computadora.
3. Una computadora con procesador Corei7 de octava generación, 8 Gb de memoria RAM.
4. Sistema operativo Windows 7 o más.

5. Programa Matlab 2013 a más.
6. Preparación de la muestra según lo tratado en el Ítem 4.6 y Figura 88.

A continuación se describe cada una de los bloques

La captación

El proceso comienza con la captación de la imagen a color con un aumento de 100X, mediante el microscopio con cámara y luego la imagen es transmitida a la computadora mediante un cable USB.

Para esta etapa se presenta el siguiente Código de programa 13 que permita la captura de la imagen.

```
vid=videoinput('winvideo'); % driver genérico de la cámara
vid.ReturnedColorSpace='rgb';%imagen a color
vidRes=get(vid,'VideoResolution');% resolución por default de la cámara
nBands=get(vid,'NumberOfBands');% 3 bandas de color
himage=image(zeros(vidRes(2),vidRes(1),nBands));%
preview(vid,himage);
```

Código de programa 13. **Captación de imágenes a color por la cámara de los leucocitos**
Fuente. Elaboración propia

- **Niveles de gris**

La imagen a color es convertida en una imagen en niveles de gris, considerando que la imagen a color está basada en el modelo RGB. El proceso de conversión a niveles de gris es tratado en el ítem 4.7.2 y mostrado en la Figura 91.

- **Segmentación**

Mediante este bloque se realiza la segmentación es decir se obtiene una imagen con dos niveles de gris como son el color blanco y negro. Este proceso es tratado en el ítem 4.7.3 y mostrado en la Figura 92.

- **Dilatación y erosión**

A continuación, los objetos de la imagen son dilatados y luego erosionados para definir mejor los objetos segmentados. Este proceso es tratado por ítem 4.7.4 y mostrado en la Figura 93.

- **Se determina el número de leucocitos**

Luego, los objetos de la imagen son etiquetados para ser contabilizados. Una vez contabilizados, se tiene el número de leucocitos en la imagen que en este caso es N.

- **Recorte de imágenes**

A continuación se realiza el recorte de las imágenes de los leucocitos de la imagen captada por la cámara con fines de reconocimiento y clasificación. Este proceso es captada es descrita en el ítem 4.76 y presentada en la Figura 95.

- **Bloque de inicialización**

En este bloque se inicializa la variable "i" igual a cero para realizar el conteo diferenciado.

- **Condicional**

Luego, se procede a realizar el reconocimiento de cada tipo de leucocito de la imagen, y establece el conteo respectivo mediante un bloque condicional donde se establece el valor N (número de leucocitos determinado previamente) como valor límite de "i", las iteraciones donde si no se excede el limite N se procede al proceso de identificación del glóbulo blanco y si se excede el límite N entonces se contabiliza los glóbulos blancos en forma diferenciada.

- **Segmenta célula**

Este bloque se ejecuta si el valor de "i" de conteo de glóbulos blancos es menor que "N" el número total de células en la imagen captada por la cámara. Para el proceso de reconocimiento se procede a segmentar la región de la célula. El proceso es descrito en el ítem 4.7.7 y presentadas en las Figuras 96 y 97.

- **Segmenta núcleo**

La región del núcleo es separada de la imagen de la célula. Este proceso es descrito en el ítem 4.7.8 y mostrado en la Figura 98.

- **Segmenta del citoplasma**

La región del citoplasma es separada de la imagen de la célula. Este proceso es descrito en el ítem 4.7.9 y mostrado en la Figura 99.

- **Determinación de descriptores**

Se ejecuta para determinar los 12 descriptores del leucocito a identificar a partir de los pixeles de la segmentación de la célula, núcleo y citoplasma. Los descriptores se presentan en la matriz2 en la siguiente Figura 105.

```
>> matriz2

matriz2 =

   1.0e+03 *

    1.4710    1.7240    2.3970    1.4660    1.6780    1.9950
    1.3350    0.6720    0.9620    0.7050    1.4760    0.8870
    0.0029   -0.0001    0.0005    0.0002    0.0026    0.0004
    0.0011    0.0011    0.0011    0.0013    0.0012    0.0011
    0.0289    0.0522    0.0408    0.0656    0.0216    0.0449
    0.0059    0.0070    0.0070    0.0068    0.0056    0.0071
    0.0010    0.0010    0.0010    0.0010    0.0010    0.0010
    0.0124    0.0015    0.0021    0.0013    0.0107    0.0020
    0.0493    0.1200    0.0802    0.1222    0.0538    0.0763
    0.0908    0.0390    0.0401    0.0481    0.0880    0.0445
    0.1448    0.1530    0.1793    0.1558    0.1560    0.1643
    0.1227    0.1581    0.1068    0.1785    0.0974    0.1102
```

Figura 105. **Descriptores de las células de la imagen para ser identificadas**
Fuente: Elaboración propia

En la Figura 105, cada fila empezando por la parte superior representa los siguiente descriptores: Área de célula, Área de núcleo, Asimetría, Compacidad, Desviación estándar, Entropía, Número de Euler, Curtósis, Media de célula, Porcentaje del área del núcleo, Perímetro y Media del citoplasma, todos estos conceptos tratados en los ítem 4.8.4 al 4.8.12. Cada columna representa los descriptores de cada leucocito en la imagen.

- **Identificación por RNA**

Se continúa con el ingreso de los descriptores a la red neuronal artificial, y se realiza primero el entrenamiento de la red y luego el reconocimiento del leucocito.

La fase de entrenamiento de la red neuronal artificial se da inicio mediante el uso de los descriptores como patrones de referencia para obtener las salidas correspondientes. En los cuadros 9 al 13 se muestran los descriptores, cuales fueron obtenidos mediante un procedimiento similar al bloque anterior pero de manera independiente, es decir previamente antes de ejecutar el programa y se puede verificar ejecutando matriz1 como se observa en la siguiente Figura 106.

```
 matriz1

triz1 =

 1.0e+03 *

Columns 1 through 11

  1.9500    2.0810    2.0540    1.7430    2.1110    2.3690    1.4060    0.8960    1.0370    1.8500    1.5650
  1.8360    1.9470    1.8330    0.4250    1.8190    2.1150    1.2130    0.8110    0.8960    1.2640    0.9050
  0.0011    0.0020    0.0022    0.0000    0.0010    0.0015    0.0024    0.0031    0.0025    0.0013    0.0004
  0.0011    0.0012    0.0011    0.0012    0.0011    0.0012    0.0012    0.0011    0.0011    0.0011    0.0013
  0.0172    0.0200    0.0264    0.0291    0.0276    0.0263    0.0303    0.0154    0.0215    0.0465    0.0398
  0.0059    0.0060    0.0062    0.0068    0.0066    0.0064    0.0059    0.0054    0.0056    0.0058    0.0065
  0.0010    0.0010    0.0010    0.0010    0.0010    0.0010    0.0010    0.0010    0.0010    0.0010    0.0010
  0.0064    0.0098    0.0094    0.0027    0.0041    0.0064    0.0087    0.0207    0.0096    0.0030    0.0016
  0.0661    0.0661    0.0695    0.1247    0.0725    0.0707    0.0434    0.0483    0.0601    0.1154    0.0934
  0.0942    0.0936    0.0892    0.0244    0.0862    0.0893    0.0863    0.0905    0.0864    0.0653    0.0578
  0.1670    0.1770    0.1712    0.1609    0.1737    0.1858    0.1440    0.1122    0.1196    0.1620    0.1599
  0.1015    0.1137    0.1253    0.1367    0.1184    0.1266    0.1080    0.0727    0.1017    0.1730    0.1363

Columns 12 through 22

  1.8140    2.0460    2.2010    1.8540    1.8150    1.9580    2.1230    2.0660    1.3300    1.5600    1.6180
  1.0390    0.9590    0.7970    0.7140    1.5590    1.8280    1.0500    0.6560    1.1330    1.2980    1.3460
  0.0007    0.0004   -0.0004   -0.0000    0.0023    0.0017    0.0009    0.0004    0.0018    0.0025    0.0022
  0.0014    0.0011    0.0011    0.0015    0.0012    0.0011    0.0011    0.0011    0.0014    0.0012    0.0012
  0.0376    0.0448    0.0538    0.0562    0.0271    0.0179    0.0302    0.0296    0.0300    0.0303    0.0308
  0.0065    0.0071    0.0068    0.0070    0.0062    0.0059    0.0067    0.0065    0.0060    0.0059    0.0058
  0.0010    0.0010    0.0010    0.0010    0.0010    0.0010    0.0010    0.0010    0.0010    0.0010    0.0010
  0.0022    0.0019    0.0014    0.0013    0.0106    0.0097    0.0034    0.0028    0.0054    0.0095    0.0073
  0.0879    0.0765    0.1164    0.1331    0.0780    0.0536    0.0975    0.1181    0.0627    0.0494    0.0885
  0.0573    0.0469    0.0362    0.0385    0.0859    0.0934    0.0495    0.0318    0.0852    0.0832    0.0832
  0.1781    0.1686    0.1771    0.1861    0.1638    0.1663    0.1732    0.1709    0.1529    0.1504    0.1561
  0.1264    0.1132    0.1542    0.1711    0.1270    0.0923    0.1190    0.1328    0.1228    0.1025    0.1449

Columns 23 through 33

  2.0040    2.1250    1.3940    1.8940    2.0640    1.4300    1.7450    1.9200    1.9420    2.1010    2.2070
  1.2910    0.7470    0.5450    1.7970    1.0630    1.3340    0.9500    0.7990    1.7860    0.8690    1.6480
  0.0007   -0.0005   -0.0000    0.0025    0.0007    0.0023    0.0006    0.0001    0.0018    0.0007    0.0015
  0.0012    0.0011    0.0017    0.0012    0.0011    0.0011    0.0013    0.0011    0.0012    0.0011    0.0011
  0.0347    0.0549    0.0638    0.0195    0.0306    0.0137    0.0499    0.0487    0.0248    0.0334    0.0385
  0.0063    0.0067    0.0067    0.0059    0.0067    0.0054    0.0069    0.0068    0.0063    0.0068    0.0063
  0.0010    0.0010    0.0010    0.0010    0.0010    0.0010    0.0010    0.0010    0.0010    0.0010    0.0010
  0.0020    0.0015    0.0012    0.0128    0.0029    0.0150    0.0019    0.0013    0.0086    0.0026    0.0041
  0.0834    0.1252    0.1404    0.0512    0.1061    0.0649    0.0938    0.1290    0.0620    0.1123    0.0732
  0.0644    0.0352    0.0391    0.0949    0.0515    0.0933    0.0544    0.0416    0.0920    0.0414    0.0747
  0.1717    0.1737    0.1728    0.1661    0.1703    0.1427    0.1717    0.1644    0.1706    0.1742    0.1758
  0.1269    0.1637    0.1838    0.1095    0.1307    0.0925    0.1416    0.1653    0.1177    0.1334    0.1319

Columns 34 through 44

  1.8940    1.5320    1.7390    2.1440    1.5320    1.5800    1.6020    2.0360    2.1140    1.8140    1.8200
  0.9090    0.5290    1.5860    0.8240    1.1100    0.6540    0.8840    1.7850    0.8890    1.5680    1.2770
  0.0004   -0.0003    0.0029    0.0003    0.0014    0.0006    0.0007    0.0019    0.0009    0.0027    0.0013
  0.0012    0.0014    0.0012    0.0012    0.0015    0.0015    0.0011    0.0011    0.0012    0.0011    0.0011
  0.0396    0.0550    0.0225    0.0345    0.0391    0.0500    0.0469    0.0248    0.0338    0.0275    0.0307
  0.0068    0.0067    0.0059    0.0068    0.0060    0.0068    0.0069    0.0061    0.0068    0.0057    0.0064
  0.0010    0.0010    0.0010    0.0010    0.0010    0.0010    0.0010    0.0010    0.0010    0.0010    0.0010
  0.0019    0.0013    0.0151    0.0021    0.0034    0.0018    0.0022    0.0075    0.0031    0.0108    0.0038
  0.0982    0.1432    0.0659    0.1178    0.1031    0.1276    0.0983    0.0751    0.0863    0.0584    0.0945
  0.0480    0.0345    0.0912    0.0384    0.0725    0.0414    0.0552    0.0877    0.0421    0.0864    0.0702
  0.1705    0.1619    0.1598    0.1790    0.1720    0.1738    0.1508    0.1691    0.1752    0.1589    0.1603
  0.1308    0.1776    0.1112    0.1398    0.1592    0.1568    0.1433    0.1258    0.1072    0.1168    0.1345

Columns 45 through 50

  1.2410    2.0360    2.2470    2.1630    2.1650    1.8720
  0.6730    1.9360    0.8290    1.4620    1.1840    0.6590
  0.0005    0.0014    0.0008    0.0010    0.0006   -0.0003
  0.0023    0.0011    0.0013    0.0012    0.0011    0.0015
  0.0613    0.0164    0.0337    0.0422    0.0365    0.0582
  0.0066    0.0058    0.0068    0.0063    0.0065    0.0068
  0.0010    0.0010    0.0010    0.0010    0.0010    0.0010
  0.0014    0.0066    0.0034    0.0026    0.0020    0.0013
  0.1202    0.0623    0.0818    0.0740    0.0852    0.1446
  0.0542    0.0951    0.0369    0.0676    0.0547    0.0352
  0.1911    0.1694    0.1887    0.1773    0.1737    0.1848
  0.1792    0.1028    0.1007    0.1306    0.1204    0.1832
```

Figura 106. **Identificadores de los patrones de referencia de cada tipo de células, que son ingresadas a la RNA.**
Fuente. Elaboración propia

En la Figura 106 de la matriz1, cada fila representa un descriptor empezando en la parte superior de manera similar a la matriz 2 mencionado en el bloque anterior, y cada columna representa al tipo de célula como patrón para obtener la salida respectiva. En el Cuadro 14, se observa la estructura de la matriz1 por cada tipo de célula marcada a colores y en el Cuadro 15, se presenta su correspondiente salida para cada patrón de entrada.

Antes de dar inicio a la fase de entrenamiento de la red neuronal se procede a determinar las variables conteniendo los descriptores de matriz1 y matriz2 en el siguiente Código de programa14.

```
p=matriz1;% cargados los parámetros adecuadamente ordenadas y repetidas
          % para la capa de entrada de la RNA (DESCRIPTORES CALCULADOS)
IM=imread('micro5.jpg'); %imagen de las células para ser contadas
matriz2=imparblanco(IM); % matriz2 es de (12 x n°de celulas) parámetros de las
                         % celulas para el conteo difernciado. Se genera en blancos5_h.m
                         %imparblanco() permite determinar matriz2.
```

Código de programa 14. **Determina los parámetros de cada una de los leucocitos de la imagen**
Fuente. Elaboración propia

Una vez que se obtiene los descriptores para dar inicio a la etapa de entrenamiento se establece los parámetros de entrenamiento de la red neuronal artificial:

- 01 capa de entrada de 12 neuronas.
- 01 capa oculta de 50 neuronas.
- 01 capa de salida de 5 neuronas.
- Los patrones de entrada fueron 50 y 50 salidas y el número de entradas por objeto 12.
- Las funciones de transferencia de la capa oculta es Tangente Hiperbólica y de la capa de salida la función Logaritmo Sigmoidal.
- Los valores de salida fueron 0.0001 para 0 y 0.9999 para 1.
- 40 iteraciones.
- 0.001 de factor de aprendizaje.

- Algoritmo de entrenamiento: Levenverg- Macquart para la minimización del error cuadrático que se emplea en el algoritmo de Backpropagation.
- Performance: Means Squared Error (MSE).

Estos parámetros se presentan en el Código de programa 15.

```
net=newff(minmax(p),[50,5],{'tansig','logsig'},'trainlm');
                        %Función capa oculta Tangente Hiperbólica
                        %Función capa de salida Logaritmo Sigmoidal
net.trainparam.show=50;% neuronas ocultas
net.trainparam.lr=0.05;% inicio de error (mse)
net.trainparam.max_fail=5;% 5 salidas
net.trainparam.mem_reduc=1;% habilitacion de memoria necesaria
net.trainparam.min_grad=1e-10;% Mínimo valor de gradiente
net.trainparam.mu=0.001; %inicio del factor mu
net.trainparam.mu_inc=100;% incremento de mu
net.trainparam.time=inf;% tiempo estimado de acuerdo a la red.
net.trainparam.epochs=40;% iteraciones
net.trainparam.goal=1e-5;% objetivo del error final
```

Código de programa 15. **Configuración de los parámetros para la red neuronal artificial en la fase de entrenamiento.**
Fuente. Elaboración propia.

La fase de reconocimiento consiste en la identificación de los leucocitos. Para esta fase la entrada de la red neuronal son los doce descriptores obtenidos en la matriz2, se emplea el método de Backpropagation el cual es tratado en detalle en el acápite 2.4.6. En la Figura 107 se presenta el esquema de la red neuronal empleada con Matlab en cuyo entorno se utilizó la herramienta nntraintool.

El código correspondiente a la ejecución de ambas fases se presenta en el siguiente Código de programa 16.

```
t1=[0.9999;0.9999;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.00
01;0.0001;0.0001;0.9999;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.999
9;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001
;0.0001;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001];
t2=[0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.9999;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.00
01;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.000
1;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.0001;0.0001
;0.0001;0.0001;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001];
t3=[0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.9999;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.00
01;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.000
1;0.0001;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.0001
;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.0001;0.0001];
t4=[0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.9999;0.9999;0.00
01;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.9999;0.0001;0.0001;0.000
1;0.0001;0.0001;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999
;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.0001];
t5=[0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.99
99;0.9999;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.9999;0.000
1;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001
;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999];

t=[t1 t2 t3 t4 t5]; % formato de salida según el patrón de referencia de 50 para entrenar
t=t'; % cálculo de la transversa de t
[net,tr]=train(net,p,t); %CAPA DE SALIDA ES una red de VARIAS salidaS
a=sim(net,p);              % fin  de proceso de entrenamiento
y(:,n)=net(x); % Salida célula reconocida
```

Código de programa 16. **Ejecución de la fase de reconocimiento**.
Fuente. Elaboración propia

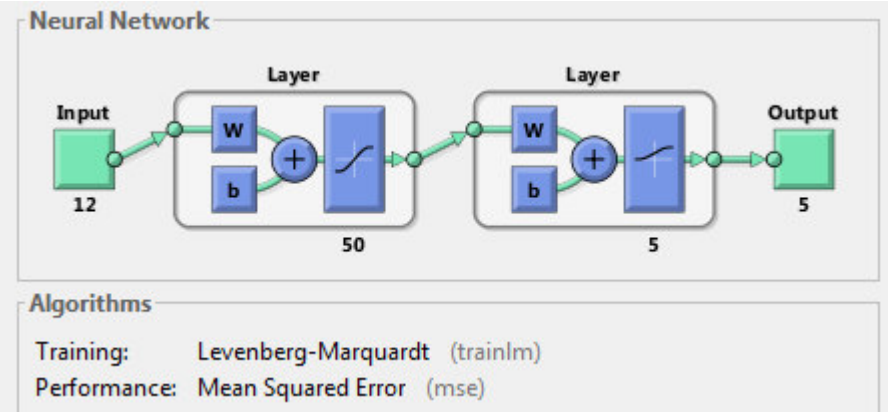


Figura 107. **Esquema de Red neuronal artificial implementada para el conteo diferenciado de leucocitos, basada en la herramienta nntraintools de Matlab..**
Fuente. Elaboración propia

En la Figura 107 se observa la estructura de la red neuronal utilizada, donde se observa 12 neuronas en la capa de entrada, una capa oculta de 50 neuronas, donde se observa que se empleó la función Tangente Hiperbólica y en las neuronas de la capa de salida, la función Sigmoidal. Para la fase de entrenamiento el algoritmo Levenberg-Marquardt y para el performance el modelo de Backpropagation tratado en el acápite 2.4.6.

- **Incremento de conteo**

Se incrementa el conteo cuando a la variable "i" se le incrementa en uno, para proceder a la siguiente identificación de glóbulo blanco si el limitador en el bloque condicional no excede N.

- **Número de leucocitos por tipo**

Este bloque se ejecuta si se excede el limite N del bloque condicional, para contabilizar los glóbulos blancos en forma diferenciada y luego imprimir el resultado.

- **Salida**

Finalmente se contabiliza los leucocitos reconocidos y se imprime el resultado.

```
t_cel=sum(mayor2); % En la matriz t_cel se encuentra los resultados
fprintf('==================================================');
fprintf('\nCONTEO DIFERENCIADO (MÉTODO RNA - 12 PARAMETROS)');
fprintf('\nBasofilos:    %i',t_cel(1));
fprintf('\nEusinofilos:  %i',t_cel(2));
fprintf('\nLinfocitos:   %i',t_cel(3));
fprintf('\nMonocitos:    %i',t_cel(4));
fprintf('\nNeutrofilos:  %i',t_cel(5));
fprintf('\n==================================================');
fprintf('\nTOTAL:        %i',ncel);
fprintf('\n==================================================\n');
```

Código de programa 17. **Permite la impresión del resultado del conteo de leucocitos en pantalla.**
Fuente. Elaboración propia.

Se presenta el Código de programa que permite la impresión en pantalla del resultado del conteo respectivo.

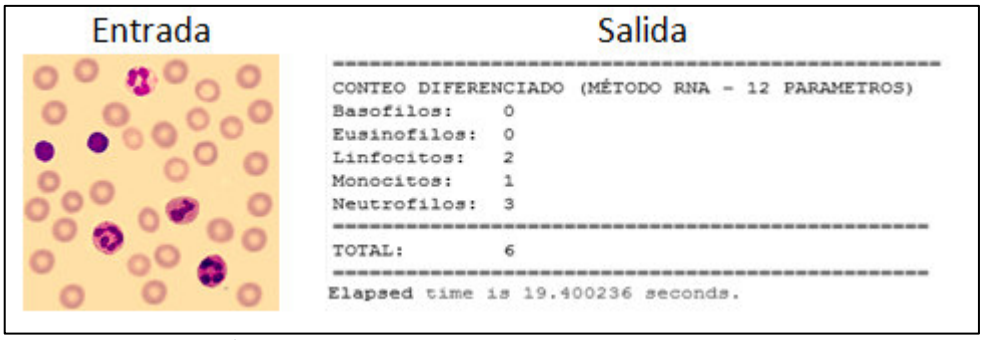


Figura 108. **Impresión del conteo diferenciado mediante Redes neuronales Artificiales en lado derecho, y en lado izquierdo la imagen de entrada**.
Fuente. Elaboración propia.

En la Figura 108, se observa el resultado de la impresión en pantalla que constituye la salida del programa junto a la entrada, además se indica el tiempo de ejecución del programa "Elapsed time", el cual se realiza con los comandos "tic" al comienzo del programa y "toc" al final del Código programa 34.

En el Código de programa 34 del Anexo1 se presenta el código en Matlab del algoritmo basado en las Redes Neuronales Artificiales, asimismo se presentan en el Cuadro 43 del Anexo 1 las **entradas** y **salidas** del algoritmo implementado, mediante las corridas respectivas.

4.9.2. El método de conteo diferenciado desarrollado mediante método de Máximos y Mínimos

Este método consiste en determinar si cada uno de los doce parámetros de un leucocito se encuentra entre el mínimo y máximo valor de cada descriptor por cada tipo de leucocito y luego analizar en cuál de los tipos de leucocitos se obtuvo más resultados dentro del rango establecido.

En la Figura 109, se observa el esquema como trabaja este nuevo método desarrollado, en este caso para la identificación de un leucocito, cuyos descriptores son ingresados al sistema. Luego, el sistema empieza a evaluar si cada descriptor se encuentra dentro del máximo y mínimo de los descriptores de cada célula. Si se encuentra dentro del rango se marca con "1" de lo contrario con "0", según se observa en la imagen de la Figura 104. Finalmente, se evalúa la cantidad de "1" obtenidos en cada columna correspondiente a un tipo de leucocito. En la Figura 109, se observa que el leucocito identificado es un Neutrófilo por haber obtenido el máximo número marcado con azul.

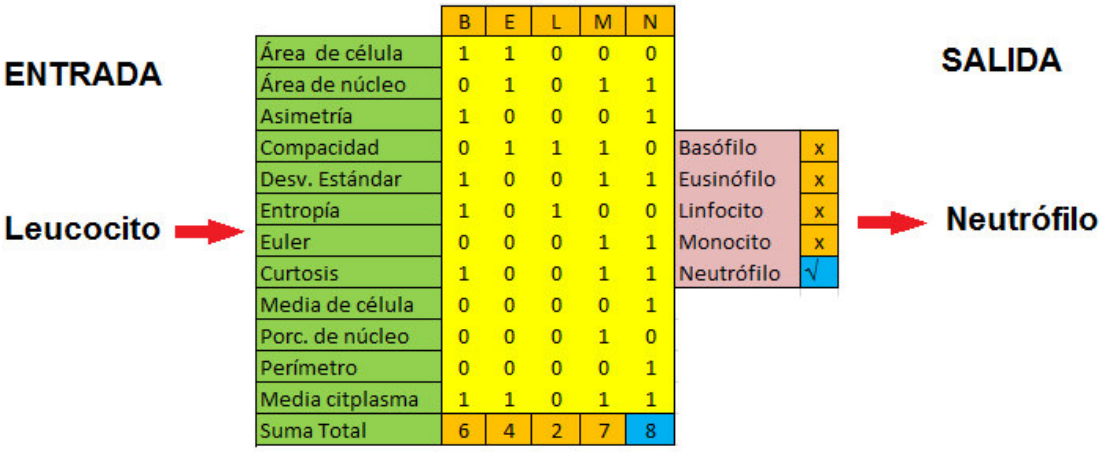


Figura 109. **Esquema del método de Máximo y Mínimos.**
Fuente. Elaboración propia.

A continuación se presentan los cuadros correspondientes a los valores mínimo y máximo de los descriptores de cada leucocito, los que sirvieron para implementar este método.

Cuadro 16. **Rango mínimo máximo de los descriptores de Basófilos**

Descriptor	Área célula	Área núcleo	Asimetría	Compacidad	Desv. Estándar	Entropía	Euler	Curtosis	Media célula	Porc. de núcleo	Perímetro	Media citplasma
Mínimo	1739.0000	1559.0000	1.1294	1.1176	16.3893	5.8415	1.0000	6.3712	51.2482	85.8953	159.7817	92.3231
Máximo	2081.0000	1947.0000	2.8641	1.1974	27.0710	6.3108	1.0000	15.0938	78.0463	95.0884	176.9533	126.9609

Fuente. Elaboración propia.

Cuadro 17. **Rango mínimo máximo de los descriptores Eusinófilos**

Descriptor	Área célula	Área núcleo	Asimetría	Compacidad	Desv. Estándar	Entropía	Euler	Curtosis	Media célula	Porc. de núcleo	Perímetro	Media citplasma
Mínimo	1743.0000	425.0000	0.0210	1.1177	26.2817	6.3818	1.0000	2.1190	70.7218	24.3832	160.8528	100.6812
Máximo	2369.0000	2115.0000	1.5150	1.2604	34.4562	6.8221	1.0000	6.3925	124.6558	89.2782	188.6518	139.7833

Fuente. Elaboración propia.

Cuadro 18. **Rango mínimo máximo de los descriptores Linfocitos**

Descriptor	Área célula	Área núcleo	Asimetría	Compacidad	Desv. Estándar	Entropía	Euler	Curtosis	Media célula	Porc. de núcleo	Perímetro	Media citplasma
Mínimo	896.0000	811.0000	1.0074	1.0984	13.6570	5.4102	1.0000	2.5562	43.4211	67.5913	112.2254	72.7326
Máximo	2207.0000	1648.0000	3.1333	1.5371	42.2183	6.2745	1.0000	20.6896	103.0516	93.2867	177.3381	159.2299

Fuente. Elaboración propia.

Cuadro 19. **Rango mínimo máximo de los descriptores Monocitos**

Descriptor	Área célula	Área núcleo	Asimetría	Compacidad	Desv. Estándar	Entropía	Euler	Curtosis	Media célula	Porc. de núcleo	Perímetro	Media citplasma
Mínimo	1565.0000	654.0000	0.4251	1.1088	30.6845	5.7998	1.0000	1.6194	83.4047	41.3924	156.1249	120.4485
Máximo	2165.0000	1346.0000	2.2280	1.5218	49.9974	6.8907	1.0000	7.3260	127.6019	83.1891	178.0660	173.0205

Fuente. Elaboración propia.

Cuadro 20. **Rango mínimo máximo de los descriptores Neutrófilos**

Descriptor	Área célula	Área núcleo	Asimetría	Compacidad	Desv. Estándar	Entropía	Euler	Curtosis	Media célula	Porc. de núcleo	Perímetro	Media citplasma
Mínimo	1241.0000	529.0000	-0.4533	1.1057	44.8500	6.6332	1.0000	1.1933	76.5381	34.5300	150.8112	113.1730
Máximo	2201.0000	959.0000	0.7108	2.3427	63.7892	7.0706	1.0000	2.1713	144.6303	55.1810	191.1371	183.8200

Fuente. Elaboración propia.

El algoritmo que representa el proceso de conteo mediante el método desarrollado de máximos y mínimos, se pude observar en la imagen de la Figura 110.

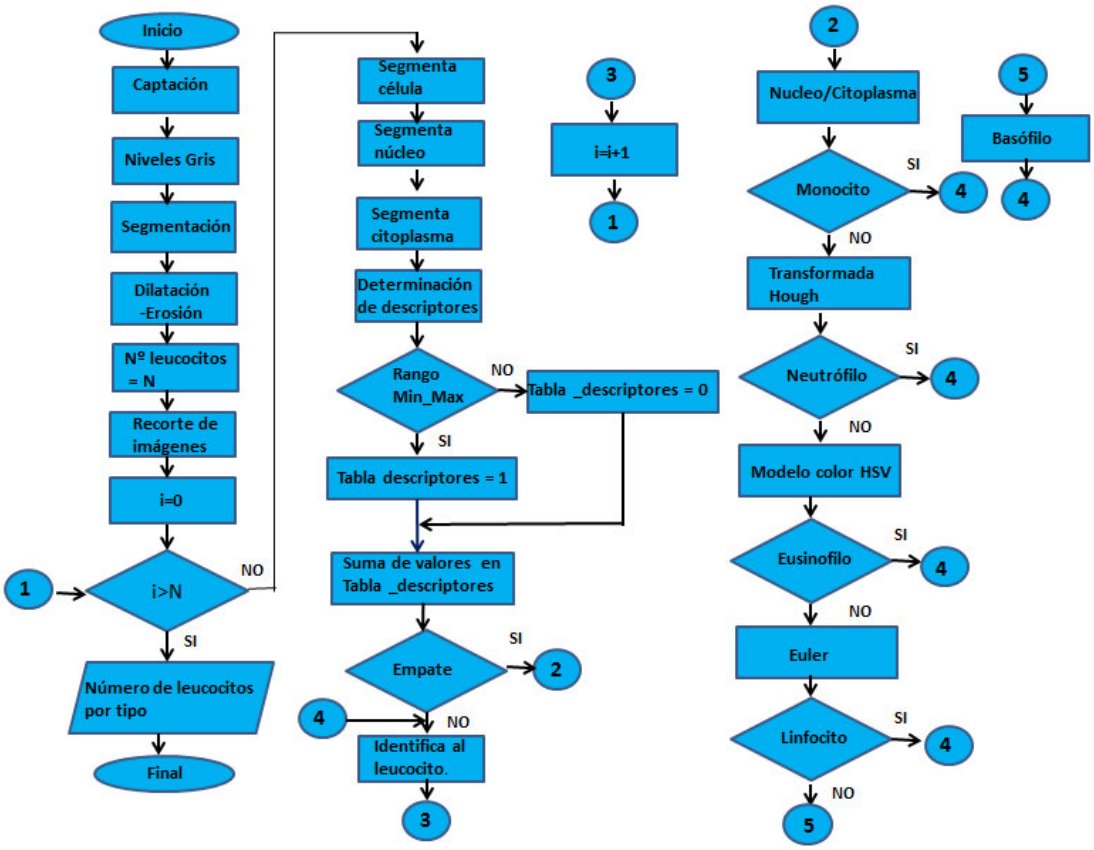


Figura 110. **Algoritmo del procedimiento de conteo diferenciado de glóbulos blancos mediante el método de Máximos y Mínimos, el código fuente se presenta en el Código de programa 35 del Anexo 1 y en el Cuadro 45 del mismo anexo, sus entradas y salidas.**
Fuente. Elaboración propia.

En la Figura 110, se observa el diagrama de flujo del método de Máximos y Mínimos.

A continuación se describe cada una de los bloques del diagrama de flujo según la secuencia lógica:

- **La captación**

El proceso comienza con la captación de la imagen a color con un aumento de 100X, mediante el microscopio con cámara y luego la imagen es transmitida a la computadora mediante un cable USB.

Para esta etapa se presenta el siguiente Código de programa 17 que permita la captura de la imagen.

```
vid=videoinput('winvideo'); % driver genérico de la cámara
vid.ReturnedColorSpace='rgb';%imagen a color
vidRes=get(vid,'VideoResolution');% resolución por default de la cámara
nBands=get(vid,'NumberOfBands');% 3 bandas de color
himage=image(zeros(vidRes(2),vidRes(1),nBands));%
preview(vid,himage);
```

Código de programa 18. **Configuración de la cámara para la captación de la imagen por la cámara.**
Fuente. Elaboración propia.

- **Niveles de gris**

La imagen a color es convertida en una imagen en niveles de gris, considerando que la imagen a color está basada en el modelo RGB. El proceso de conversión a niveles de gris es tratado en el ítem 4.7.2 y mostrado en la Figura 91.

- **Segmentación**

Mediante este bloque se realiza la segmentación es decir se obtiene una imagen con dos niveles de gris como son el color blanco y negro. Este proceso es tratado en el ítem 4.7.3 y mostrado en la Figura 92.

- **Dilatación y erosión**

A continuación, los objetos de la imagen son dilatados y luego erosionados para definir mejor los objetos segmentados. Este proceso es tratado por ítem 4.7.4 y mostrado en la Figura 93.

- **Se determina el número de leucocitos**

Luego, los objetos de la imagen son etiquetados para ser contabilizados. Una vez contabilizados, se tiene el número de leucocitos en la imagen que en este caso es N.

- **Recorte de imágenes**

A continuación se realiza el recorte de las imágenes de los leucocitos de la imagen captada por la cámara con fines de reconocimiento y clasificación. Este proceso es captada es descrita en el ítem 4.76 y presentada en la Figura 95.

- **Bloque de inicialización**

En este bloque se inicializa la variable "i" igual a cero para realizar el conteo diferenciado.

- **Condicional**

Luego, se procede a realizar el reconocimiento de cada tipo de leucocito de la imagen, y establece el conteo respectivo mediante un bloque condicional donde se establece el valor N (número de leucocitos determinado previamente) como valor límite de "i", las iteraciones donde si no se excede el limite N se procede al proceso de identificación del glóbulo blanco y si se excede el límite N entonces se contabiliza los glóbulos blancos en forma diferenciada.

- **Segmenta célula**

Este bloque se ejecuta si el valor de "i" de conteo de glóbulos blancos es menor que "N" el número total de células en la imagen captada por la cámara. Para el proceso de reconocimiento se procede a segmentar la región de la célula. El proceso es descrito en el ítem 4.7.7 y presentadas en las Figuras 96 y 97.

- **Segmenta núcleo**

La región del núcleo es separada de la imagen de la célula. Este proceso es descrito en el ítem 4.7.8 y mostrado en la Figura 98.

El Código de programa 18, permite la ejecución del resto de los bloques hasta el retorno a la condicional.

```
val=imcompara(Imgb,maxp1); % Identifica el leucocito cuando hay
empate
```

Código de programa 19. **Identifica un leucocito cuando hay un empate.**
Fuente. Elaboración propia.

- **Segmenta del citoplasma**

La región del citoplasma es separada de la imagen de la célula. Este proceso es descrito en el ítem 4.7.9 y mostrado en la Figura 99.

- **Determinación de descriptores**

Se ejecuta para determinar los 12 descriptores del leucocito a identificar a partir de los pixeles de la segmentación de la célula, núcleo y citoplasma. Los descriptores se presentan en la matriz2 en la siguiente Figura 111.

```
>> matrix2

matrix2 =

   1.0e+03 *

    1.4710    1.7240    2.3970    1.4660    1.6780    1.9950
    1.3350    0.6720    0.9620    0.7050    1.4760    0.8870
    0.0029   -0.0001    0.0005    0.0002    0.0026    0.0004
    0.0011    0.0011    0.0011    0.0013    0.0012    0.0011
    0.0289    0.0522    0.0408    0.0656    0.0216    0.0449
    0.0059    0.0070    0.0070    0.0068    0.0056    0.0071
    0.0010    0.0010    0.0010    0.0010    0.0010    0.0010
    0.0124    0.0015    0.0021    0.0013    0.0107    0.0020
    0.0493    0.1200    0.0802    0.1222    0.0538    0.0763
    0.0908    0.0390    0.0401    0.0481    0.0880    0.0445
    0.1448    0.1530    0.1793    0.1558    0.1560    0.1643
    0.1227    0.1581    0.1068    0.1785    0.0974    0.1102
```

Figura 111. **Descriptores de cada una de las células de la imagen de la muestra para la determinación de los máximos y mínimos de cada una de ellas.**
Fuente: Elaboración propia

En la Figura 111 cada fila empezando por la parte superior representa los siguientes descriptores: Área de célula, Área de núcleo, Asimetría, Compacidad, Desviación estándar, Entropía, Número de

Euler, Curtósis, Media de célula, Porcentaje del área del núcleo, Perímetro y Media del citoplasma, todos estos conceptos tratados en los ítem 4.8.4 al 4.8.12. Cada columna representa los descriptores de cada leucocito en la imagen.

- **Rango Max-Min**

En esta etapa condicional, se determina si cada descriptor analizado está dentro de un máximo y mínimo valor de cada tipo de leucocito, para ello se ha obtenido la información de las tablas de máximo y mínimos por cada tipo de leucocito presentados anteriormente en los Cuadros del 16 al 20.

- **Tabla de descriptores = 1**

A partir del análisis realizado en el bloque anterior se elabora una tabla donde se coloca un 1 si el descriptor está dentro del rango máximo y mínimo, tal como se presenta en la Figura 109.

- **Tabla de descriptores = 0**

A partir del análisis realizado en el bloque anterior se elabora una tabla donde se coloca un 0 si el descriptor está fuera del rango máximo y mínimo de cada descriptor en la tabla de descriptores, tal como se muestra en la Figura 109.

- **Suma de valores en Tabla descriptores**

Luego, se determina el máximo puntaje, mediante la suma del total de unos en cada columna y se determina el tipo de leucocito, como se observa en la Figura 109.

- **Empate**

En este bloque condicional se determina si hay un empate o no lo hay. Si hay un empate o más, en la puntuación respectiva, entonces se procede a analizar es la relación de núcleo con el citoplasma. Si no hay empate se ejecuta el bloque Identifica al leucocito.

- **Núcleo/citoplasma**

Si el bloque condicional Empate, determina si hay empate se ejecuta este bloque analizando la relación núcleo/citoplasma y se obtiene un valor determinado.

- **Monocito**

Se analiza el valor obtenido en el bloque anterior verificando si corresponde a un Monocito, si lo es, entonces se ejecuta el bloque Identifica al leucocito. Si no lo es, se ejecuta el bloque Transformada Hough para verificar si se trata de un Neutrófilo.

- **Transformada Hough**

Este bloque determina cuantos lóbulos tiene el núcleo mediante el uso de la Transformada de Hough y se determina si se trata de un Neutrófilo, esto mediante la Transformada de Hough. La cantidad de lóbulos se indica en un parámetro.

- **Neutrófilos**

En esta etapa condicional se evalúa si el parámetro de la cantidad de lóbulos es menor o igual que 3, entonces se ejecuta el bloque Identifica al leucocito. Si el parámetro es mayor, entonces se ejecuta el bloque Modelo color HSV para determinar si se trata de un Eusinófilo.

- **Modelo color HSV**

Por la coloración que tiene este tipo de leucocito, esto se realiza mediante la transformación del modelo de color RGB a HSV, donde un rango determinado pixeles de valores corresponde al parámetro “hue” o tono.

- **Eusinófilo**

Luego, se comprueba si el valor de “hue” o tono del leucocito es mayor que 0.88. Si es mayor se ejecuta el bloque Identifica al leucocito. Si no lo es, se ejecuta el bloque Euler para determinar si se trata de un linfocito.

- **Euler**

Mediante este bloque condicional se calcula el parámetro Euler que determina el número de huecos que presenta el núcleo del linfocito.

- **Linfocito**

En este bloque condicional se evalúa si Euler es mayor que “1”, entonces se trata de un Linfocito y se ejecuta el bloque Identifica al leucocito. Si es menor que “1” se ejecuta el bloque Basófilo.

- **Basófilo**

Se ejecuta este bloque, indicando que mediante un indicador que se trata de un Basófilo. Luego se ejecuta el bloque Identifica al leucocito.

- **Identifica al leucocito**

Se ejecuta este bloque una vez identificado el leucocito luego de las etapas tratadas anteriormente. Siguiendo el criterio la máxima puntuación como se ilustra en la Figura 109.

- **Incremento de contador**

En este bloque se incrementa el contador para luego ejecutarse el condicional. Si en el bloque condicional i es mayor que N se ejecuta el bloque Número de leucocitos por tipo.

- **Número de leucocitos por tipo**

Una vez determinado los leucocitos y cada uno de ellos se procede a su cuantificación respectiva e impresión en pantalla.

```
ce_2=sum(ce_1); % En ce_2 se almacena la suma de cada tipo de cel.
fprintf('==================================================================');
fprintf('\nCONTEO DIFERENCIADO (METODO MAXIMO Y MINIMOS - 12 PARAMETROS');
fprintf('\nBasofilos:    %i',ce_2(1));
fprintf('\nEusinofilos:  %i',ce_2(2));
fprintf('\nLinfocitos:   %i',ce_2(3));
fprintf('\nMonocitos:    %i',ce_2(4));
fprintf('\nNeutrofilos:  %i',ce_2(5));
fprintf('\n==================================================================');
fprintf('\nTOTAL:        %i',ncel);
fprintf('\n==================================================================\n');
```

Código de programa 20. **Impresión de los resultados del conteo de leucocitos como salida del algoritmo**.
Fuente. Elaboración propia

En el Código de programa se presenta el código para imprimir los resultados del conteo, como salida del programa que implementa el algoritmo de Máximos y Mínimos.

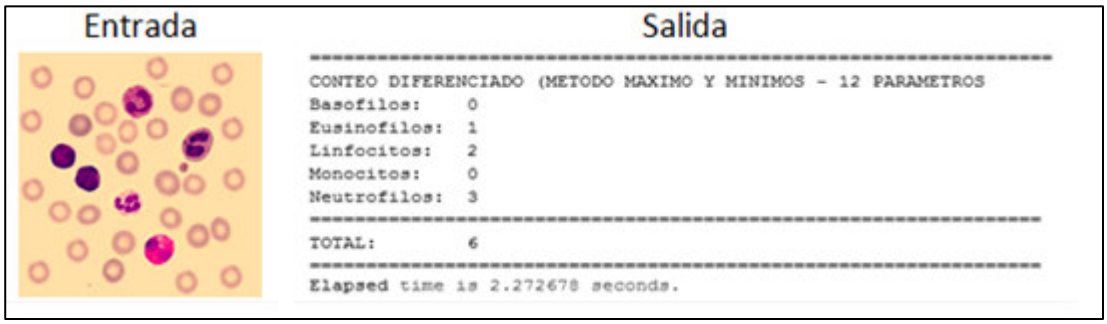


Figura 112. **Impresión en pantalla del resultado de conteo diferenciado de glóbulos blancos por el método de Máximos y Mínimos, en lado derecho y en lado izquierdo la entrada.**
Fuente. Elaboración propia.

En la Figura 112, se observa el resultado de la impresión en pantalla, decir es la salida del algoritmo. Se observa en la última línea del texto de salida, el parámetro "Elapsed time", el cual indica el tiempo de ejecución del programa para obtener los resultados.

En el Código de programa 35 del Anexo1 se presenta el código en Matlab del algoritmo basado en el método de Máximos y Mínimos, asimismo se presentan en el Cuadro 44 del Anexo 1 las **entradas** y **salidas** del algoritmo implementado.

4.9.2.1. Ventajas del algoritmo basado en el método del Máximos y Mínimos (Algoritmo Diseñado) respecto al algoritmo basado en Redes Neuronales Artificiales

A partir de los Cuadro 44 y 45 del Anexo 1, se elaboró el Cuadro 21, considerando específicamente el parámetro tiempo de ejecución ("Elapsed time"), y los resultados de los conteos de la **salida** de cada algoritmo implementado. Los resultados respecto a la precisión y falsos positivos fueron obtenidos luego del análisis de los resultados del reporte de **salida** en concordancia con los conceptos tratados sobre falsos positivos y precisión en el acápite 4.10.1.

Cuadro 21. **Análisis comparativo de los dos métodos desarrollados con respecto al tiempo de procesamiento y los falsos positivos**

Celulas	Método de RNA				Método de Max-Min			
	Tiempo (seg)	Falso positivo	Valores positivos	Precisión	Tiempo(seg)	Falso positivo	Valores positivos	Precisión
6	18.73	2	4	66.67	2.43	1	4	80
6	19.15	0	6	100	2.27	0	6	100
6	19.08	3	3	50	2.24	0	6	100
6	19.91	2	5	71.43	2.07	0	6	100
6	19.4	0	6	100	2.34	0	6	100
6	19.43	1	5	83.33	2.75	0	6	100
6	19.87	2	4	66.67	2.37	0	6	100
6	19.6	1	4	80	2.24	1	4	80
6	19.68	3	3	50	2.27	0	6	100
6	19.23	3	3	50	2.41	0	6	100
Promedio	19.41	1.7	4.3	71.81	2.34	0.2	5.6	96
Desviación	0.37	1.16	1.16	19.06	0.18	0.42	0.84	8.43

Fuente. Elaboración propia.

En el Cuadro 21 se observa que los conteos se hicieron sobre imágenes de 6 células y siendo las mismas para ambos algoritmos.

A continuación se mencionan las siguientes ventajas:

- En el Cuadro 21, se observa que el tiempo de procesamiento del Método de conteo diferenciado mediante Redes Neuronales Artificiales (19.41 segundos en promedio) demora más que el Método de Máximos y Mínimos (2.34 segundos en promedio).

- Los falsos positivos mediante el método de redes neuronales artificiales (1.7 en promedio) es mayor que el presentado con el método de Máximos y Mínimos (0.2 en promedio).

- Finalmente, la precisión con el método de Máximos y Mínimos (96% en promedio) es mayor que la presentada con el método de Redes Neuronales Artificiales (71.81% en promedio).

Por tanto, por las consideraciones mencionadas el método de Máximos y Mínimos es el elegido para efectos del conteo diferenciado de glóbulos blancos o leucocitos como el algoritmo diseñado (AD).

4.10. Algoritmo de procesamiento digital de imágenes para el conteo de células sanguíneas propuesto.

El algoritmo propuesto en la presente investigación es la integración de los algoritmos de conteo de glóbulos rojos y conteo de glóbulos blancos determinados en los acápites 4.5 y 4.9 respectivamente, y se presenta en la Figura 113.

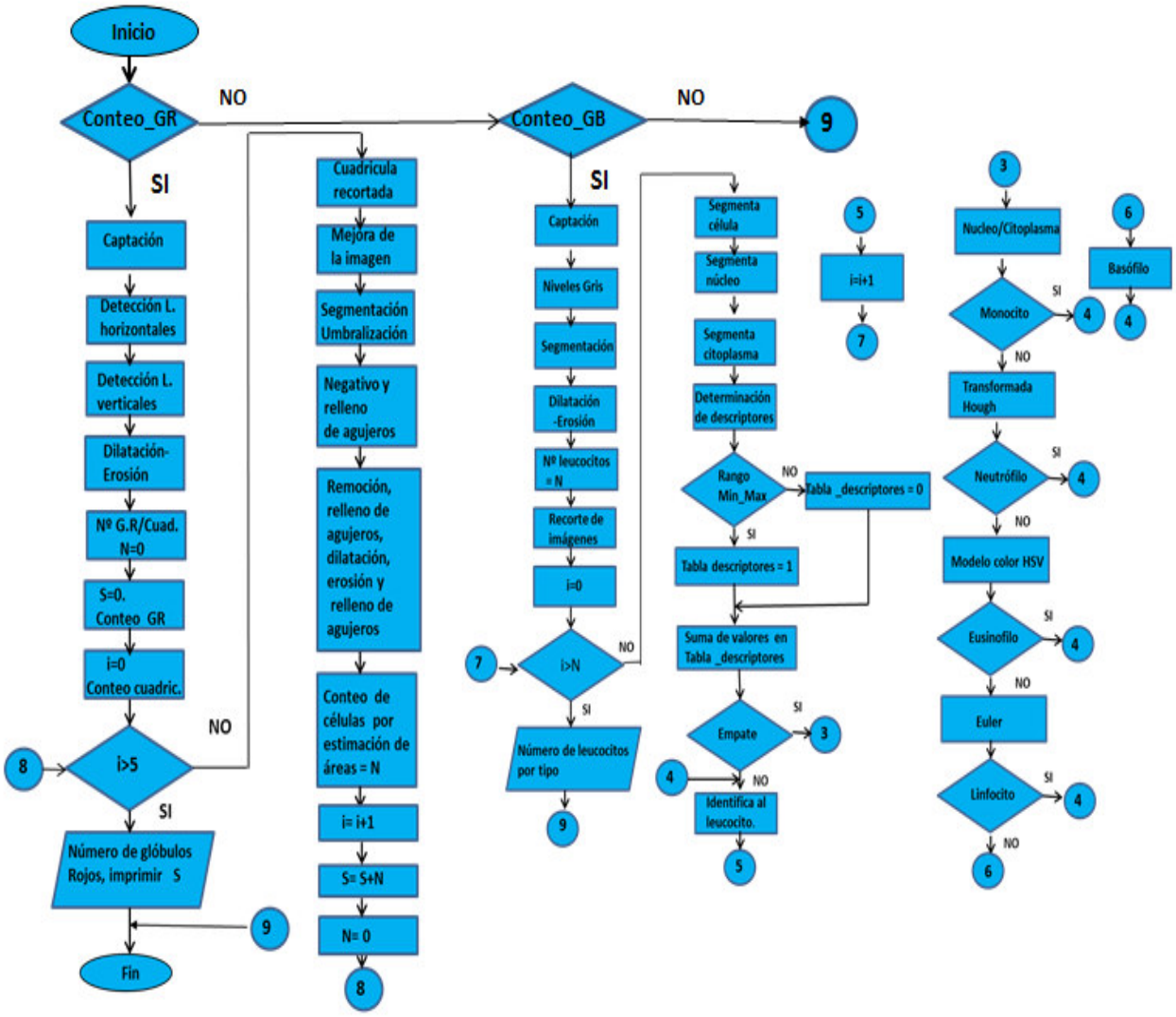


Figura 113. **Algoritmo diseñado propuesto en la presente investigación**.
Fuente. Elaboración propia

El algoritmo se inicia con la elección del conteo de glóbulos rojos o glóbulos blancos. Si se elige el conteo glóbulos rojos se inicia con el proceso de captación de la imagen del microscopio de la imagen derecha de la Figura 56, luego, se detectan las líneas horizontales, se continúa con las líneas verticales, se realiza un proceso de dilatación y erosión de la imagen obtenida. Se inicializa el con "N" el número de células a contar por cuadricula, se inicializa el acumulador "S" que indica la cuenta de células de las cuadriculas contadas y luego se inicializa con "i" el número de cuadricula contada. Si "i no es mayor que 5", se realiza el conteo de glóbulos rojos en cada cuadricula y el resultado se almacena en N, se

acumula en S y se inicializa “N=0”, para el conteo de siguiente cuadricula indicada por “i”. Luego, si “i es mayor que 5” se termina el conteo de cuadriculas y el conteo de glóbulos rojos en todas las cuadriculas se almacena en “S” y se imprime el resultado.

Si se elige al comienzo del algoritmo, el conteo de glóbulos blancos, se realiza la captación de la imagen, luego se cambia a una imagen de niveles de gris, luego se procede a la segmentación para seleccionar los objetos de interés de la imagen, se realiza un proceso de dilatación y erosión de la imagen segmentada para mejorar la imagen segmentada. Luego se realiza el conteo de los objetos seleccionados que son las células y se obtiene el número de glóbulos blancos en la imagen, cuyo valor se almacena en “N”. Luego se realiza el recorte de cada glóbulo blanco de la imagen, formando nuevas imágenes solamente una por cada glóbulo blanco recortado, de esta manera se facilita el análisis individual de cada una. Luego se inicializa “i” para el conteo y análisis de cada tipo de glóbulo blanco. Se continua con el condicional de si “i>N”, es decir, cuando “i” sea mayor que “N” se imprime los resultados del conteo diferenciado. De lo contrario se realiza el análisis de cada glóbulo blanco, mediante la segmentación del glóbulo blanco, luego la segmentación del núcleo, luego la segmentación del citoplasma, luego se determinan los valores de los de los descriptores del glóbulo blanco, a continuación se determinan si estos valores están dentro de un rango mínimo o máximo previamente determinado para los glóbulos blancos, si lo están se marca con 1, si no lo están se marca con 0 en la tabla de descriptores generado para el glóbulo blanco analizado. Se continua con la suma de los valores de obtenidos en la tabla por cada tipo posible de glóbulo blanco, tal como se observa en la Figura 105. En la tabla se verifica si hay empates en los resultados de la suma. Si lo hay, se procede a realizar un análisis más detallado del núcleo del glóbulo blanco, primero realizando un análisis de la relación de tamaño de núcleo y citoplasma, luego determinar si se trata de un Monocito con una referencia predeterminada, si no lo es se aplica la Transformada de Hough al núcleo para determinar si se trata de un neutrófilo, es decir

mediante la Transformada de Hough se detecta la presencia de más de dos lóbulos, tener estos cierta forma circular. Si no es un Neutrófilo, se analiza el núcleo mediante el modelo HSV de color para determinar si se trata por el color del núcleo un Eusinófilo. Si no lo es, se verifica el Numero de Euler al núcleo, que nos determina el número de huecos que tiene la imagen y si es más de dos se indica que es un Linfocito. Si no lo es, entonces por defecto se trata de un Basófilo. Identificado el glóbulo blanco, se corrige la tabla del empate. Luego, se incrementa el valor de "i" en uno para proceder al análisis del siguiente glóbulo blanco, y así hasta que "i=N" entonces se termina el conteo diferenciado de glóbulos blancos. Finalmente se imprime el resultado, en la Figura 114, se observa la entrada y salida de los algoritmos de conteo de glóbulos rojos y blancos respectivamente. La integración de los algoritmos mencionados en el párrafo inicial se realiza mediante la interfaz gráfica de la Figura 127 y su codificación en el Código de programa 36 del Anexo 1, el cual es tratado en detalle en el acápite 5.1.3 del Capítulo 5.

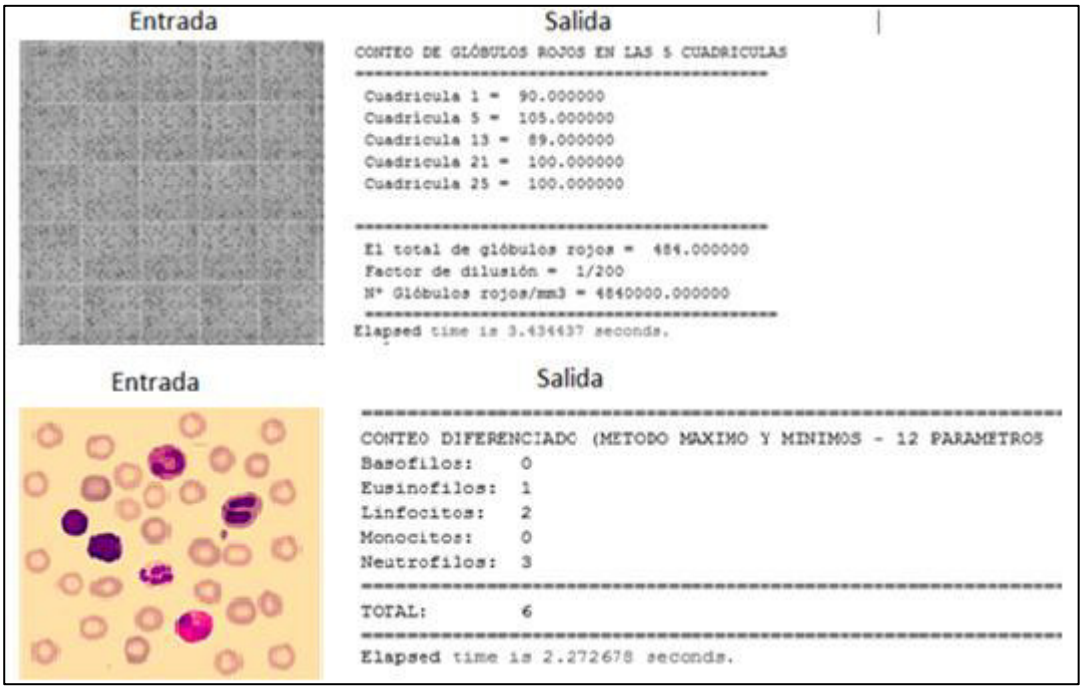


Figura 114. **Entradas y salidas del algoritmo de conteo de glóbulos rojos y blancos respectivamente.**
Fuente. Elaboración propia

4.10.1. Desempeño del Algoritmo de procesamiento digital de imágenes propuesto.

El desempeño de un sistema informático en este caso el programa en base al algoritmo diseñado, nos indica cuan bien realiza su trabajo mediante la combinación de medidas respectivas (Curiel, 2017). A continuación se presenta las características de desempeño del programa desarrollado en base al algoritmo propuesto:

- Tiempo de respuesta
- Throughput
- Capacidad
- Precisión
- Disponibilidad

A continuación se trata acerca de cada uno de los parámetros mencionados:

- **El tiempo de respuesta**

Es el intervalo de tiempo que transcurre durante la ejecución del programa que ejecuta el conteo de células sanguíneas (Curiel, 2017).

El tiempo de respuesta del conteo de glóbulos rojos es 3.49 segundos, para lo cual se consideró el promedio del **Cuadro 8**, correspondiente al Algoritmo diseñado. En el caso del conteo de glóbulos blancos, el tiempo de respuesta se consideró, el tiempo promedio del **Cuadro 21** del Algoritmo diseñando igual a 2.34 segundos, el cual también se presenta en el **Cuadro 23.**

- **El throughput**

Es la tasa a la cual el programa realiza el conteo, es decir el número de conteos por tiempo de respuesta (Curiel, 2017).

Para determinar el throughput se calcula, considerando el número de conteos por unidad de tiempo de la siguiente manera:

$$T_{hr} = \frac{C_o}{t_r}$$

Dónde:

T_{hr}: Throughput

C_o: Número de conteos

t_r: Tiempo de respuesta

Para el caso de los glóbulos rojos

C_o=1 conteo

t_r=3.49 segundos

T_{hr}=0.29 conteos/segundo

Para el caso de los glóbulos blancos

C_o=1 conteo

t_r=2.34 segundos

T_{hr}=0.43 conteos/segundo

- **La capacidad**

Es calculada en base al máximo número de células contadas entre el tiempo de respuesta correspondiente (Curiel, 2017).

En el caso del número máximo de células contadas se obtienen los datos de los glóbulos rojos y glóbulos blancos a partir de los **cuadros 2 y 21** respectivamente.

$$C = \frac{C_c}{t_r}$$

Dónde:

C_c: Número máximo de glóbulos contados

t_r: Tiempo de respuesta correspondiente al número máximo de células contadas.

C: Capacidad

Para el caso de los glóbulos rojos.

C_c= 503 glóbulos rojos

t_r= 3.29 segundos

C= 153 glóbulos/segundo aproximando al entero más cercano

Para el caso de los glóbulos blancos

C_c= 6 glóbulos blancos

t_r= 2.07 segundos es el menor tiempo de conteo para el conteo de 6 glóbulos.

C= 3 glóbulos/segundo aproximando al entero más cercano

- **Falsos positivos**

Es la suma de objetos de la imagen identificados en forma incorrecta.

- **Valores positivos**

Es la suma de objetos de la imagen debidamente identificados.

- **La precisión**

Es una métrica del algoritmo diseñado y representa los objetos clasificados de la imagen, expresado en porcentaje, y se define como la relación entre resultados correctos y el total de resultados de la operación (Berzal, 2017). Es decir, los valores positivos entre la suma de los valores positivos y los falsos positivos. El cociente de la división se multiplicada por 100 para expresar la precisión en porcentaje.

Precisión, es calculado en base a los valores positivos (VP) es decir a los aciertos en la discriminación de las células por parte del programa y los falsos positivos (FP).

$$P_f = \frac{VP}{VP+FP} \text{ x } 100\%$$

Pf: Precisión
VP: Valores positivos
FP: Falsos positivos

Para el caso de los glóbulos rojos los datos se obtiene del **cuadro 25.**

Pf = 98 %
VP= 96 glóbulos rojos (promedio conteo Manual)
FP= 2 glóbulos rojos falsos positivos del total de objetos en la imagen (promedio conteo AD 98 glóbulos).

Para el caso de los glóbulos blancos se obtiene del **cuadro 21.**

Pf = 96 % (promedio)
VP= 5.6 (promedio) glóbulos blancos identificados
FP= 0.22 (promedio) glóbulos blancos identificados falsos positivos respecto al total de glóbulos blancos identificados en la muestra. De acuerdo a los valores promedio del **Cuadro 21.**

- **La disponibilidad**

Es el tiempo que el programa es disponible para el usuario y esta expresado en porcentaje (Curiel, 2017).

La disponibilidad, está en función de cuánto tiempo está disponible el programa y cuánto tiempo esta no está disponible por factores como el mantenimiento.

$$D = \frac{T_d - T_{nd}}{T_d} x100\%$$

D: Disponibilidad

Td: Tiempo disponible del programa

Tnd: Tiempo no disponible del programa

Para el caso de los glóbulos rojos y glóbulos blancos.

D=100%

Td= 24*365 días (todos los días al año) Tiempo disponible del programa

Tnd= 0 días Tiempo no disponible del programa

En el siguiente cuadro se muestra las características de desempeño del algoritmo desarrollado mostrando los resultados obtenidos.

Cuadro 22 : Características de desempeño

Item	Conteo de glóbulos rojos	Conteo de glóbulos blancos
Tiempo de respuesta	3.49 seg.	2.34 seg.
Throughput	0.29 conteos/seg	0.42 conteos/seg
Capacidad	153 cels./seg.	2.8 cels./seg.
Precisión	98%	96%
Disponibilidad	100%	100%

Fuente: Elaboración propia

En el presente trabajo de investigación se considera el tiempo de respuesta como el parámetro más importante de desempeño del algoritmo diseñado (Curiel, 2017). El algoritmo desarrollado realiza el conteo de glóbulos rojos y el conteo diferenciado de glóbulos blancos.

CAPITULO 5: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente capítulo se presentan los resultados relacionados con los objetivos e hipótesis de la tesis. En primer lugar, se presenta el algoritmo diseñado, propuesto para la presente investigación, para el conteo de células sanguíneas referido a glóbulos rojos y glóbulos blancos. Luego, se realizan las pruebas de hipótesis correspondientes a la hipótesis general e hipótesis especificas a partir de los resultados obtenidos en las mediciones de los conteos de células sanguíneas.

5.1. Algoritmo de conteo de células sanguíneas

En el desarrollo del Capítulo 4, se expone acerca de los fundamentos de la implementación del algoritmo diseñado, presentado en este Capítulo que constituye a su vez la integración de los siguientes algoritmos:

- Algoritmo para el conteo de glóbulos rojos de la Cámara de Neubauer.
- Algoritmo para el conteo diferenciado de glóbulos blancos.

Finalmente, se presenta el algoritmo diseñado para el conteo de células sanguíneas resultado de la integración de los dos anteriores, que es la propuesta de la presente Tesis (**acápite 5.1.3**).

5.1.1. Algoritmo para el conteo de glóbulos rojos de la Cámara de Neubauer

La imagen captada en este algoritmo es la imagen proveniente de la Cámara de Neubauer colocada en el portaobjeto del microscopio, la que se observa en la imagen de la izquierda de la Figura 56, del acápite 4.1. Luego se realiza la extracción de 5 imágenes correspondientes a las cuadriculas a ser analizadas las que se muestran en las Figuras 55 y 56. Para la implementación de este procedimiento, se realiza primero la detección de las líneas horizontales, tal como se presenta en las Figuras 56 y 57. Luego, se realiza la detección de líneas verticales, igualmente se presenta en las Figuras 58 y 59. Estos procedimientos están sustentados en la aplicación de la Transformada de Hough, para la detección de líneas. Una vez obtenidas las líneas se procede a establecer las cuadriculas y luego se delimitan para determinar las cuadrículas de interés. A continuación se analizan las imágenes de las cuadriculas seleccionadas para proceder a realizar el conteo de los glóbulos rojos respectivo, mediante el algoritmo presentado en el acápite 4.2.6, Figura 70, correspondiente al Método de Conteo de Glóbulos Rojos Mediante Basado en Áreas (CBA) del Procesamiento Digital de Imágenes.

Finalmente, el algoritmo se observa en la Figura 115, el cual posteriormente se integrará al algoritmo de conteo diferenciado de glóbulos blancos que resultará en el algoritmo, que es objetivo de la presente investigación y descrito en forma detallada en el acápite 4.5.

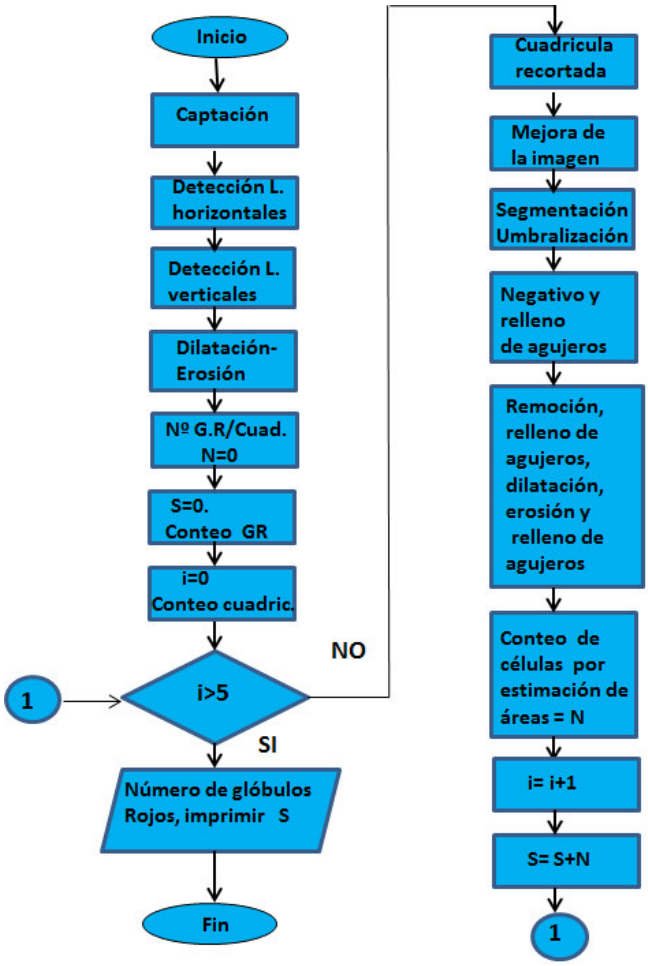


Figura 115. **Algoritmo de conteo de glóbulos rojos mediante el Método de Conteo Basado en Áreas, el código fuente se presenta en el Código de programa 31 del Anexo 1 y en el Cuadro 43 del mismo anexo, sus entradas y salidas.**
Fuente. Elaboración propia.

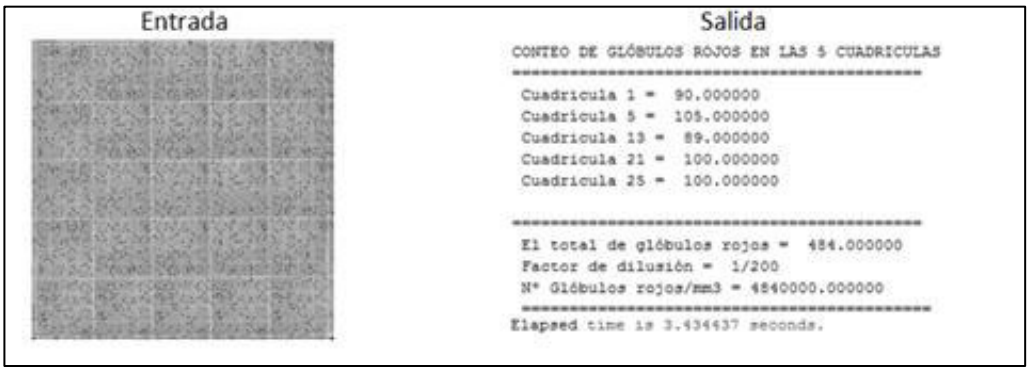


Figura 116. **La entrada presenta la imagen de la muestra de glóbulos rojos en la cámara de Neubauer presentada en cuadriculas y luego la salida muestra la imagen del resultado del conteo.**
Fuente: Elaboración propia

Las entradas y salidas del programa se muestran en el Cuadro 44 del Anexo 1, de manera similar a la presentada en la Figura 116.

El algoritmo de conteo de glóbulos rojos, se incorporó en el programa de la interfaz gráfica que se presenta en la Figura 117, mediante la herramienta Guide Interfaz User (GUI) de Matlab con la finalidad de observar su aplicación en un prototipo. El código fuente de la interfaz es mostrado en el Código de programa 37 del Anexo 1.

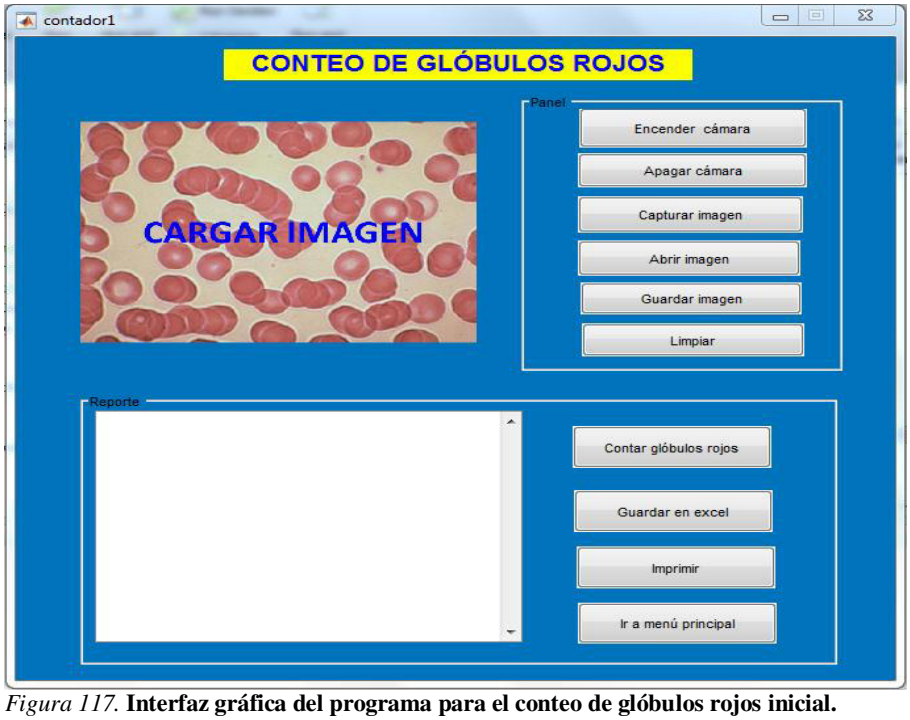


Figura 117. **Interfaz gráfica del programa para el conteo de glóbulos rojos inicial.**
Fuente. Elaboración propia.

El procedimiento para realizar el conteo de glóbulos rojos mediante la interfaz gráfica es la siguiente:

- Se presiona el botón “Encender cámara” en la interfaz de la Figura 117. En el siguiente código se presenta el Código de programa 21 referente al botón.

```
function pushbutton2_Callback(hObject, eventdata, handles)
global vid
% hObject    handle to pushbutton2 (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)
set(handles.pushbutton4,'enable','on');
set(handles.Axis1,'visible','on'); %Hace visible el boton
axes=(handles.Axis1); % Crea el objeto axes
vid=videoinput('winvideo'); % Habilita el driver
vid.ReturnedColorSpace='grayscale'; % Habilita la escala de grises
vidRes=get(vid,'VideoResolution'); % Habilita la resoluc. De video
nBands=get(vid,'NumberOfBands'); % Habilita los 3 canales RGB
himage=image(zeros(vidRes(2),vidRes(1),nBands));
preview(vid,himage);
```

Código de programa 21. **Botón de Encender cámara y el código respectivo para la configuración de la captación de imágenes de la cámara.**
Fuente. Elaboración propia

- Una vez captada la imagen, con el botón “Capturar imagen”, se obtiene la imagen a procesar como la imagen de la parte superior de la interfaz en la Figura 118. En el siguiente código se presenta el Código de programa 22 referente al botón.

```
function pushbutton4_Callback(hObject, eventdata, handles)
global vid
global k
% hObject    handle to pushbutton4 (see GCBO)
foto=getsnapshot(vid); % imagen capturada en foto
imshow(foto); %se muestra iagen de foto
set(handles.pushbutton4,'UserData',foto);
k=1;
```

Código de programa 22. **Botón de Capturar imagen y el código respectivo para mostrar la imagen en la interfaz gráfica.**
Fuente. Elaboración propia

- Con el botón “Contar glóbulos rojos” se realiza el conteo y se obtiene el resultado final como la imagen de la parte inferior de la Figura 119. En el siguiente código se presenta el Código de programa 23 referente al botón.

```
function pushbutton5_Callback(hObject, eventdata, handles)
global k
    if  k==1
        image=get(handles.pushbutton4,'UserData');
    end
    if  k==2
        image=get(handles.pushbutton12,'UserData');
    end
% hObject    handle to pushbutton5 (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)
%Nota MUY IMPORTANTE:

Img=image;%IMPORTANTE: Siempre cargar imagen a variable
resultado=contagr_bea(Img); % Se almacena en resultado los resultados
resultado1=['Cuadricula 1 =  ',num2str(resultado(1))];
resultado2=['Cuadricula 5 =  ',num2str(resultado(2))];
resultado3=['Cuadricula 13 =  ',num2str(resultado(3))];
resultado4=['Cuadricula 21 =  ',num2str(resultado(4))];
resultado5=['Cuadricula 25 =  ',num2str(resultado(5))];
resultado6=[' El total de glóbulos rojos =  ',num2str(resultado(6))];
resultado7=[' N° Glóbulos rojos/mm3 =  ',num2str(resultado(7))];
final={'==================================================';...
       'CONTEO DE GLÓBULOS ROJOS EN LAS 5 CUADRICULAS';...
       '==================================================';...
       resultado1;...
       resultado2;...
       resultado3;...
       resultado4;...
       resultado5;...
      ' ';...
      '==================================================';...
      resultado6;...
      'Factor de dilusión = 1/200';...
      resultado7;...
      '=================================================='};
set(handles.edit1,'String',final); % En final, está el mensaje
```

Código de programa 23. **Botón de Contar glóbulos rojos y el código respectivo para mostrar el resultado del conteo**.
Fuente. Elaboración propia

Opcionalmente:

- Si se desea otro conteo, con el botón “Limpiar” se vuelve al inicio como en la Figura 117, y se repite todo el proceso anterior.

- Si se desea guardar la imagen capturada de la cámara, se presiona el botón “Guardar”.

- Si se desea abrir una imagen de archivo, se presiona el botón “Abrir imagen”.

- Si ya no desea captar imagen de la cámara, se presiona el botón "Apagar cámara".

- Si se desea salir del programa se presiona el botón "Ir al menú principal".

Figura 118. **Interfaz donde se presenta la imagen de entrada para el algoritmo de conteo de glóbulos rojos**
Fuente. Elaboración propia

Como se puede observar el uso de la presente interfaz tiene la característica de uso intuitivo, debido a la secuencialidad en que se encuentran dispuestos los botones de la interfaz para el conteo de glóbulos rojos, que es una característica de usabilidad pertinente.

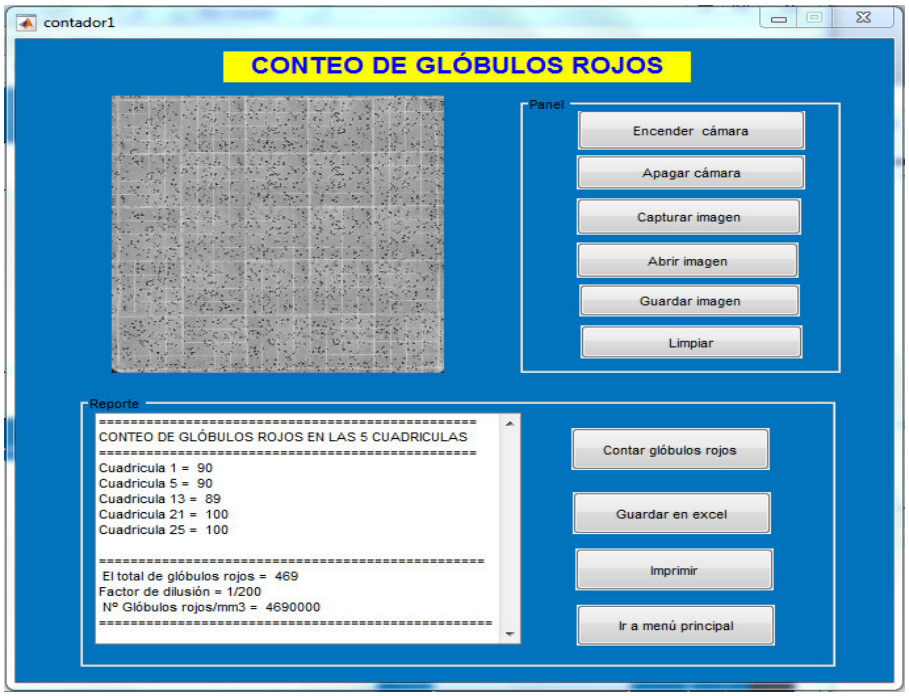


Figura 119. **Interfaz gráfica de la salida del programa de conteo de glóbulos rojos.**
Fuente. Elaboración propia

Finalmente, en la Figura 119 se presenta el resultado del proceso, tanto la entrada que es la imagen de la parte superior y la salida que es la imagen de la parte inferior, mostrando el reporte del conteo. El Código de programa 37 de la interfaz presenta el código fuente respectivo en el Anexo 1 y en el Cuadro 43 se presentan las entradas y salidas correspondiente a las corridas del programa.

.

5.1.2. Algoritmo para el conteo diferenciado de glóbulos blancos

Este algoritmo es mostrado en la Figura 116, como se indica es la implementación del conteo diferenciado de glóbulos blancos (leucocitos) por el Método de Máximos y Mínimos de PDI, explicado en el acápite 4.9.2, que es el resultado de la evaluación comparativa con el conteo diferenciado mediante Método de Redes Neuronales Artificiales (MRNA), presentado en el acápite 4.9.1.

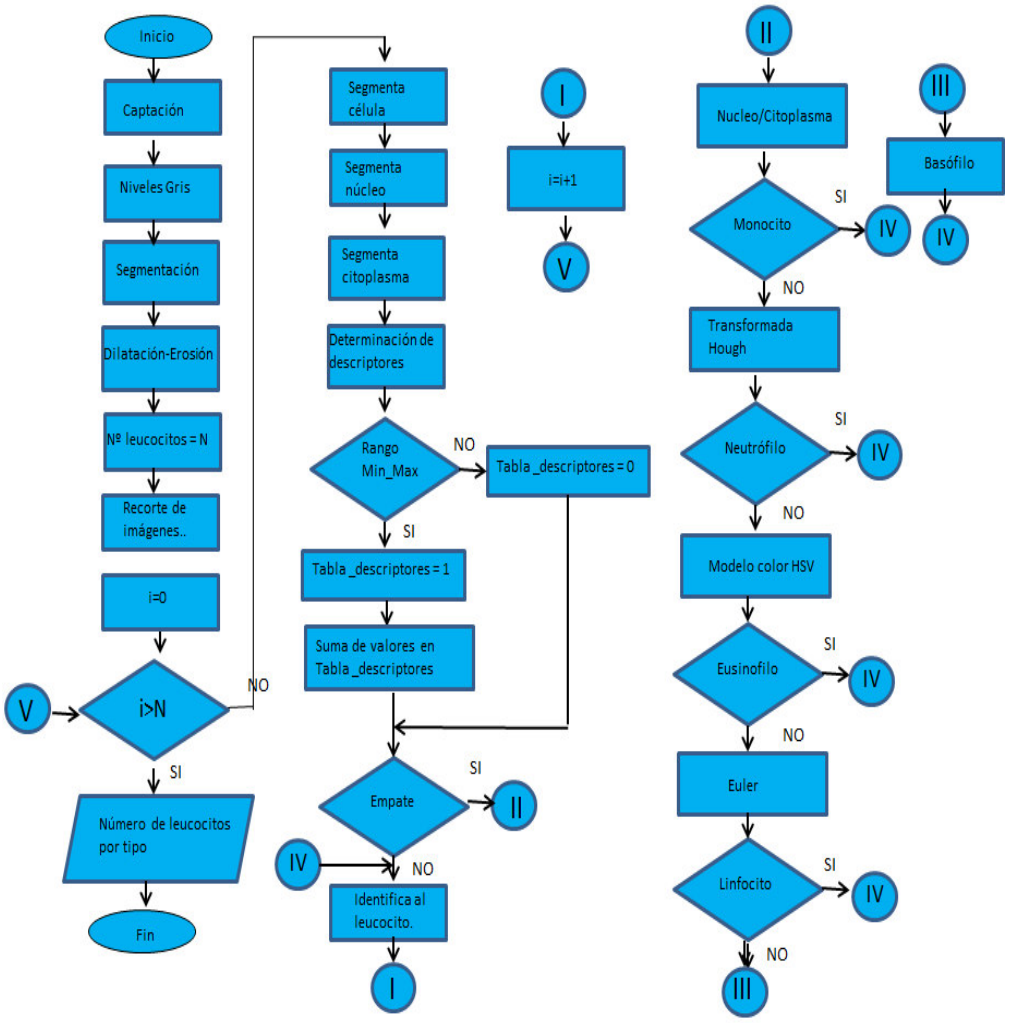


Figura 120. **Algoritmo de conteo diferenciado leucocitos mediante el método de Máximos y Mínimos, el código fuente se presenta en el Código de programa 35 del Anexo 1 y en el Cuadro 45 del mismo anexo, sus entradas y salidas.**
Fuente. Elaboración propia.

Se puede observar que este algoritmo utiliza una evaluación de cada leucocito en su integridad y luego si es necesario el análisis se centra en el núcleo. Este procedimiento resulta más ventajoso para el algoritmo por que realiza una evaluación bastante detallada de las características del leucocito. Las técnicas aplicadas basadas en lo expuesto en el capítulo 2 y aplicado en el capítulo 4, específicamente referido al procesamiento digital de imágenes, transformada de Hough y modelado de color HSV, son plasmados íntegramente en este desarrollo.

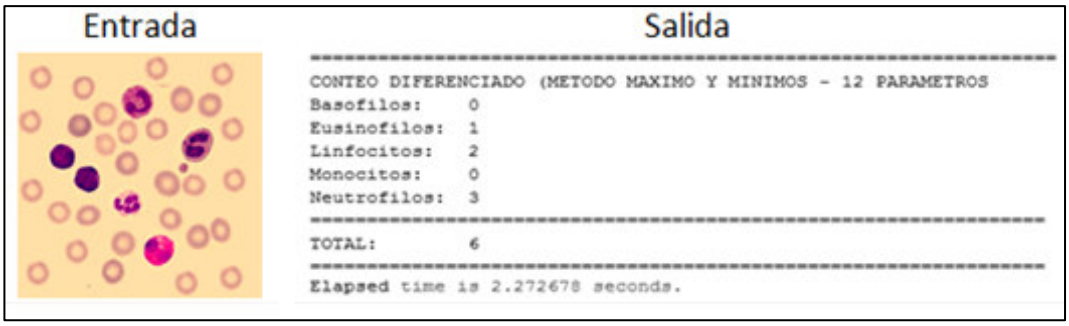


Figura 121. **Impresión en pantalla del resultado de conteo diferenciado de glóbulos blancos por el método de Máximos y Mínimos, en lado derecho y en lado izquierdo la entrada.**
Fuente. Elaboración propia.

Las entradas y salidas que se muestran en el Anexo 1, en el Cuadro 45 del Anexo1 de manera similar a la presentada en la Figura 121.

El algoritmo de conteo diferenciado de glóbulos blancos, se incorporó en el programa de la interfaz gráfica que se presenta en la Figura 122, mediante la herramienta Guide Interfaz User (GUI) de Matlab y mostrado en el Código de programa 38 del Anexo 1, con la finalidad de observar su aplicación en un prototipo.

Figura 122. **Interfaz gráfica del programa para el conteo de glóbulos blancos inicial.**
Fuente. Elaboración propia

El procedimiento para realizar e l conteo de glóbulos rojos mediante la interfaz gráfica es la siguiente:

- Se presiona el botón "Encender cámara" en la interfaz de la Figura 122. En el siguiente código se presenta el Código de programa 24 referente al botón.

```
function pushbutton2_Callback(hObject, eventdata, handles)
global vid
set(handles.pushbutton4,'Enable','on');
set(handles.Axis1,'visible','on'); %Habilitación de visible
axes=(handles.Axis1); % Objeto de axes
vid=videoinput('winvideo'); % Habilitación de driver
vid.ReturnedColorSpace='rgb'; % Imagen de color a RGB
vidRes=get(vid,'VideoResolution'); %Resolución
nBands=get(vid,'NumberOfBands'); % 3 canales R-G-B
himage=image(zeros(vidRes(2),vidRes(1),nBands));
preview(vid,himage); %Presentación de video
```

Código de programa 24. **Botón de Encender cámara y el código respectivo para la configuración de la captación de imágenes de la cámara.**
Fuente. Elaboración propia

- Una vez captada la imagen, con el botón "Capturar imagen", se obtiene la imagen a procesar como la imagen de la parte superior de la interfaz en la Figura 123. En el siguiente código se presenta el Código de programa 25 referente al código que se ejecuta para el botón.

```
function pushbutton4_Callback(hObject, eventdata, handles)
global vid
global k
foto=getsnapshot(vid); %imagen capturada
Img=imread('redgrid_2.jpg');
imshow(foto); % Moistrar imagen capturada
set(handles.pushbutton4,'UserData',foto);
k=1;
```

Código de programa 25. **Botón de Capturar imagen y el código respectivo para mostrar la imagen en la interfaz gráfica.**
Fuente. Elaboración propia

- Con el botón "Contar glóbulos rojos" se realiza el conteo y se obtiene el resultado final como la imagen de la parte inferior de la Figura 124. En el siguiente código se presenta el Código de programa referente al código que se ejecuta para el botón.

```
function pushbutton5_Callback(hObject, eventdata, handles)
global k
    if  k==1
        image=get(handles.pushbutton4,'UserData');
    end
    if  k==2
        image=get(handles.pushbutton12,'UserData');
    end
% hObject    handle to pushbutton5 (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)
%Nota MUY IMPORTANTE:

Img=image;%IMPORTANTE: Siempre cargar imagen a variable
resultado=contagb_max(Img);
resultado1=['Basofilos =  ',num2str(resultado(1))];
resultado2=['Eusinofilos =  ',num2str(resultado(2))];
resultado3=['Linfocitos  =  ',num2str(resultado(3))];
resultado4=['Monocitos  =  ',num2str(resultado(4))];
resultado5=['Neutrofilos  =  ',num2str(resultado(5))];
resultado6=[' El total de glóbulos blancos =  ',num2str(resultado(6))];
% resultado7=[' N° Glóbulos rojos/mm3 =  ',num2str(resultado(7))];
final={'==================================================';...
       'CONTEO DIFERENCIADO DE GLÓBULOS BLANCOS ';...
       '==================================================';...
       resultado1;...
       resultado2;...
       resultado3;...
       resultado4;...
       resultado5;...
      ' ';...
      '==================================================';...
      resultado6;...
      '=================================================='};
set(handles.edit1,'String',final); % final contiene
                %texto a imprimir
```

Código de programa 26. **Botón de Contar glóbulos blancos y el código respectivo para mostrar el resultado del conteo**.
Fuente. Elaboración propia

Opcionalmente:

- Si se desea otro conteo, con el botón “Limpiar” se vuelve al inicio como en la Figura 122, y se repite todo el proceso anterior.

- Si se desea guardar la imagen capturada de la cámara, se presiona el botón “Guardar”.

- Si se desea abrir una imagen de archivo, se presiona el botón “Abrir imagen”.

- Si ya no desea captar imagen de la cámara, se presiona el botón “Apagar cámara”.

- Si se desea salir del programa se presiona el botón “Ir al menú principal”.

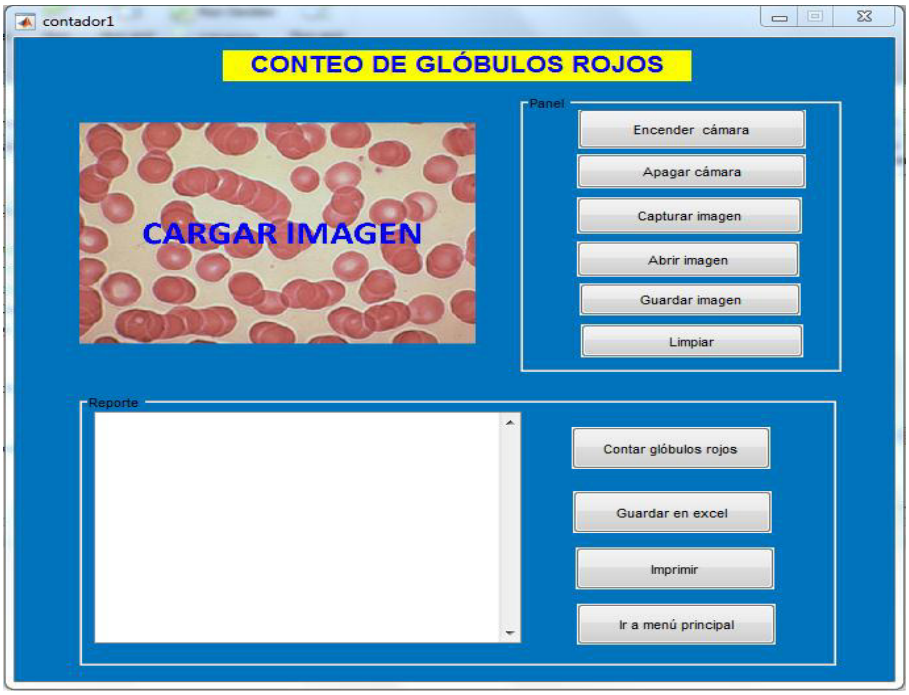


Figura 123. **Interfaz donde se presenta la imagen de entrada para el algoritmo de conteo de glóbulos blancos**
Fuente. Elaboración propia

Como se puede observar el uso de la presente interfaz tiene la característica de ser intuitivo su uso, debido a la secuencialidad en que se encuentran dispuestos los botones de la interfaz para el conteo de glóbulos blancos, que es una característica de usabilidad.

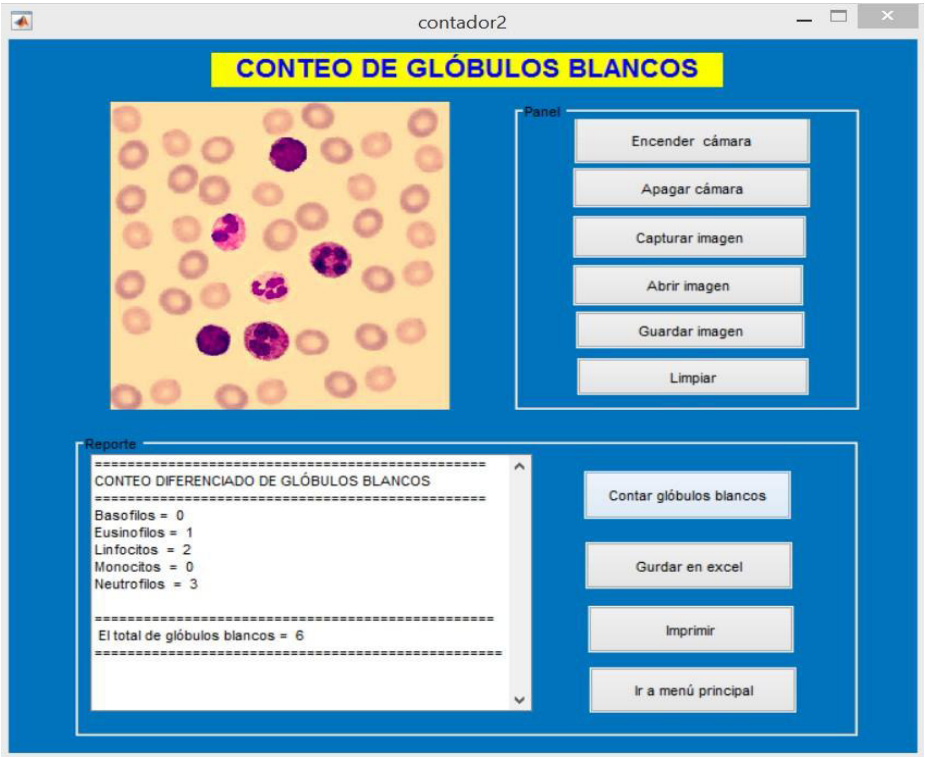


Figura 124. **Interfaz gráfica de la salida del programa de conteo de glóbulos rojos.**
Fuente. Elaboración propia

Finalmente, en la Figura 124 se presenta el resultado del proceso, tanto la entrada que es la imagen de la parte superior y la salida que es la imagen de la parte inferior mostrando el reporte del conteo.

5.1.3. Algoritmo diseñado de Conteo de Células Sanguíneas

Como resultado de la integración de los dos algoritmos expuestos anteriormente se obtiene el algoritmo diseñado, presentado en la Figura 117, donde se indica el resultado final de la integración de los algoritmos tratados. Este nuevo algoritmo permite procesar tanto glóbulos rojos y glóbulos blancos mediante el procesamiento digital de imágenes (PDI).

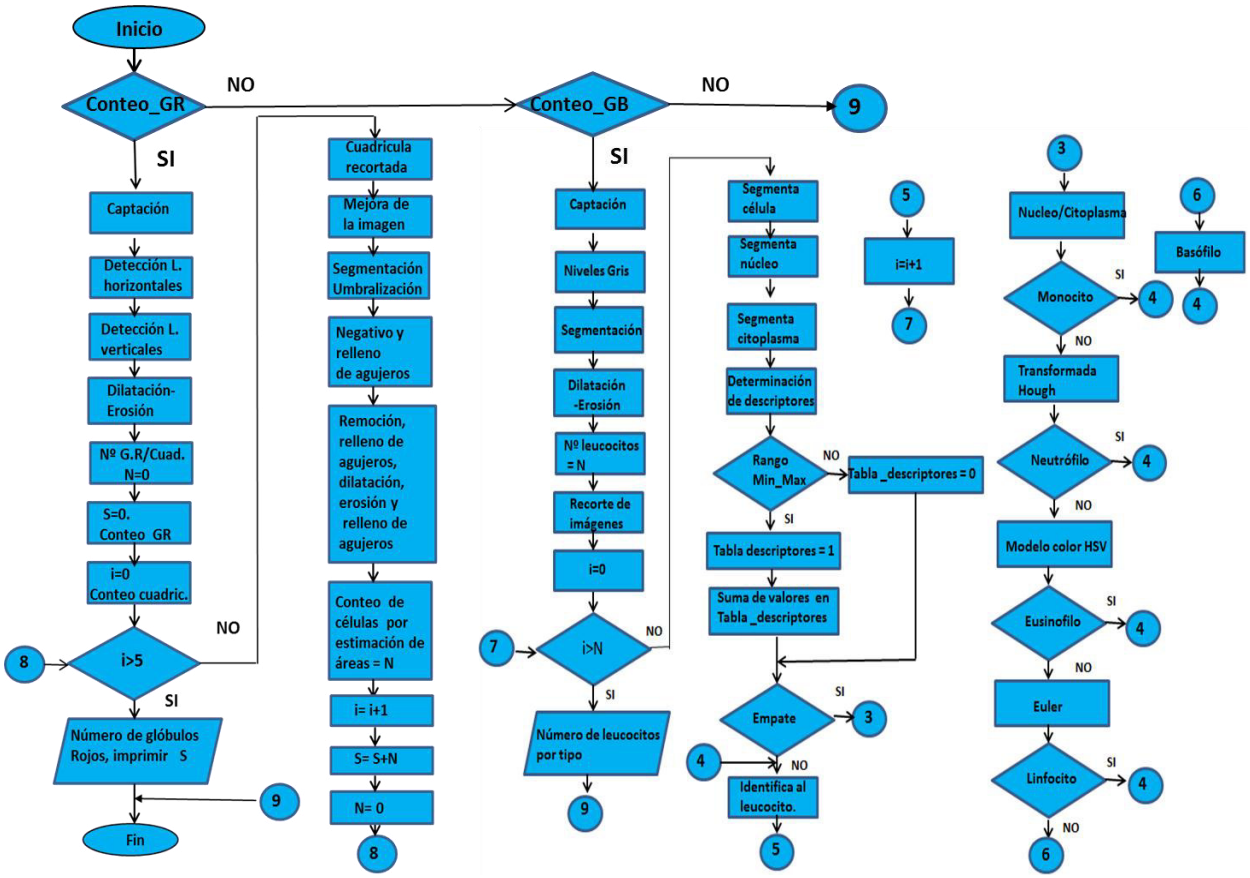


Figura 125. **Algoritmo diseñado propuesto en la presente investigación, el código fuente se presenta en el Código de programa 30 y 35 del Anexo 1 y en los Cuadros 43 y 45 del mismo anexo, sus entradas y salidas, integrado en la interfaz gráfica de la Figura 127 y su Código de programa 36.**
Fuente. Elaboración propia

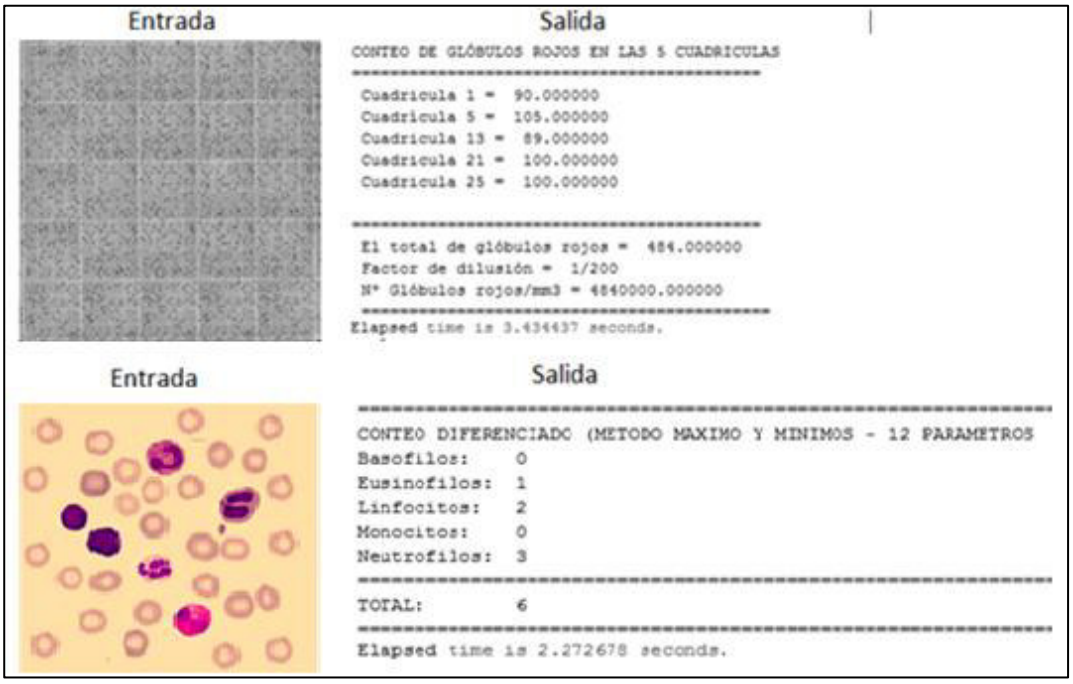


Figura 126. **Entradas y salidas de los algoritmos implementados en el programa de integración mediante la interfaz gráfica de Matlab que se presenta en la Figura 127.**
Fuente. Elaboración propia

En la Figura 126 se observa las entradas y salidas de los algoritmos de conteo glóbulos rojos y conteo diferenciado de glóbulos blancos, que se integraron mediante el programa de la interfaz gráfica que se presenta en la Figura 127, mediante la herramienta Guide Interfaz User (GUI) de Matlab y que se presenta en el Código de programa 36 del Anexo 1, con la finalidad de observar su aplicación en un prototipo.

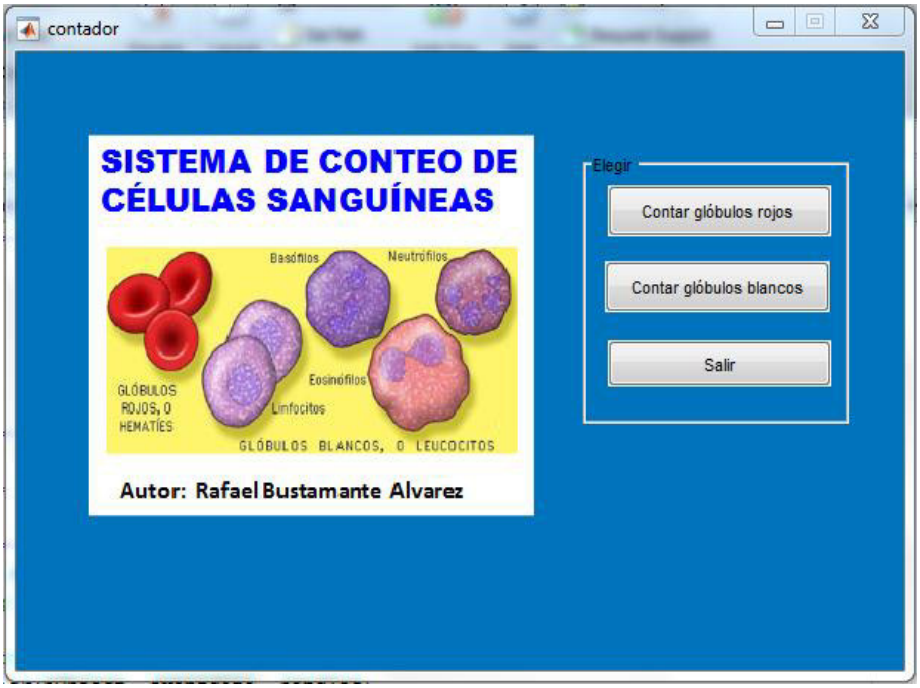


Figura 127. **Interfaz gráfica de la integración de los algoritmos de conteo de glóbulos rojos y conteo diferenciado de glóbulos blancos.**
Fuente. Elaboración propia

El procedimiento para realizar el conteo de glóbulos rojos mediante la interfaz gráfica es la siguiente:

- Se presiona el botón "Contar glóbulos rojos" en la interfaz de la Figura 127, para ejecutar el conteo de glóbulos rojos mediante la interfaz de la Figura 128, el cual fue presentado y tratado en el acápite 5.1.1. En el siguiente código se presenta el Código de programa 27 referente al botón.

```
function Cntar_globulos_rojos_Callback(hObject, eventdata, handles)
close(contador); % Cierra la interfaz contador
contador1 ; % Abre la interfaz contador1 para el conteo de glóbulos rojos
```

Código de programa 27. **Código de botón para abrir interfaz de Conteo de glóbulos rojos.**
Fuente. Elaboración propia.

- Se presiona el botón "Contar glóbulos blancos" en la interfaz de la Figura 127, para ejecutar el conteo diferenciado de glóbulos blancos mediante la interfaz de la Figura 129, el cual fue presentado y tratado en el acápite 5.1.2. En el siguiente código se presenta el Código de programa 28 referente al botón.

```
function Contar_globulos_blancos_Callback(hObject, eventdata, handles)
close(contador); %Cierra interfaz contador
contador2; % Abre interfaz contador2 para el conteo diferenciado de
           % glóbulos blancos
```

Código de programa 28. **Código de botón para abrir interfaz de Conteo diferenciado de glóbulos blancos.**
Fuente. Elaboración propia.

- Se presiona el botón "Salir" en la interfaz de la Figura 127, para dar por terminado el programa. En el siguiente se presenta el Código de programa 29, referente al botón.

```
function Salir_Callback(hObject, eventdata, handles)
close(contador); % Se cierra la interfaz principal contador
```

Código de programa 29. **Código de botón para abrir interfaz de Conteo diferenciado de glóbulos blancos.**
Fuente. Elaboración propia.

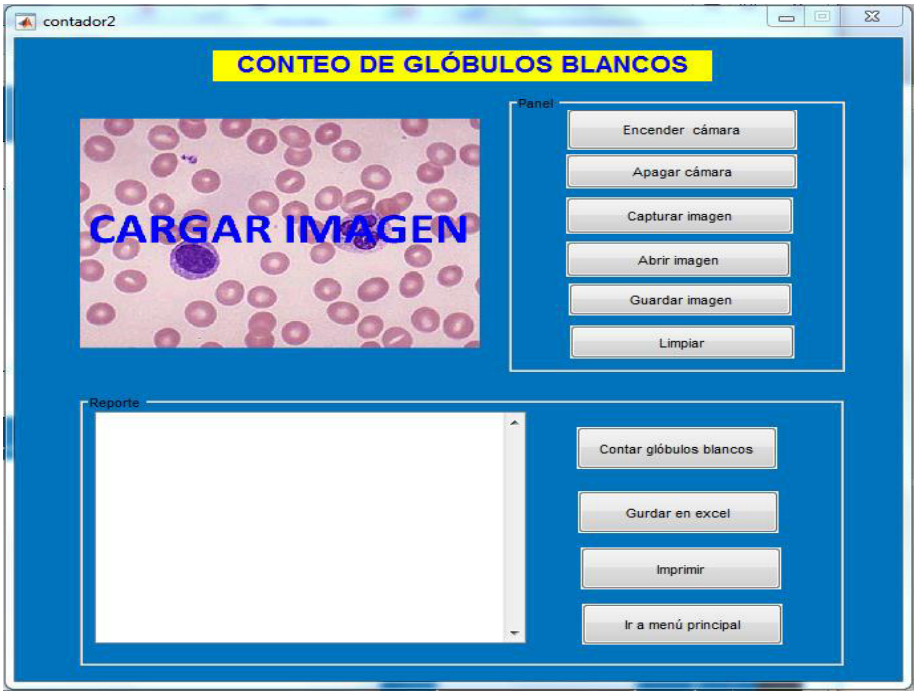


Figura 128. **Interfaz de conteo de glóbulos rojos, tratado en el acápite 5.1.1.**
Fuente. Elaboración propia

Como se puede observar el uso de la presente interfaz tiene la característica de ser intuitivo en su uso, debido a la secuencialidad en que se encuentran dispuestos los botones de la interfaz para el conteo de glóbulos rojos, que es una característica de usabilidad, desarrollado para este prototipo. El desarrollo y explicación se encuentra en el acápite 5.1.1

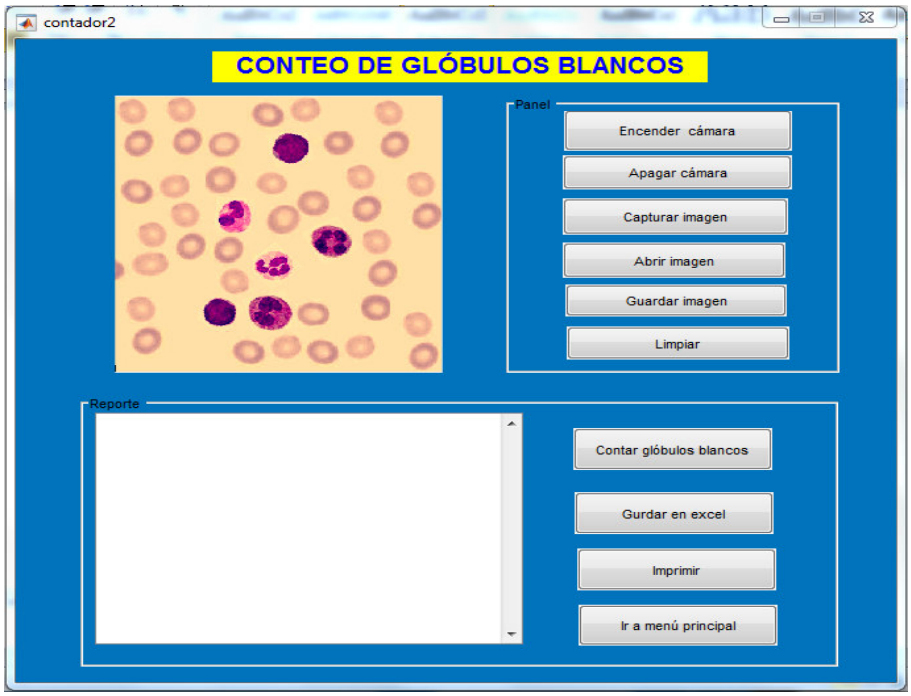


Figura 129. **Interfaz de conteo diferenciado de glóbulos blancos, tratado en el acápite 5.1.2.**
Fuente. Elaboración propia

Como se puede observar el uso de la presente interfaz, al igual que lo comentado en el párrafo anterior, tiene la característica de ser intuitivo en su uso, debido a la secuencialidad en que se encuentran dispuestos los botones de la interfaz para el conteo diferenciado de glóbulos blancos, la cual es una característica de usabilidad, desarrollado para este prototipo. El desarrollo y explicación se encuentra en el acápite 5.1.2.

Finalmente, el objetivo general de la presente tesis es "*diseñar un algoritmo para el procesamiento digital de imágenes que permita mejorar el proceso de conteo de células sanguíneas con respecto al costo y tiempo en que este se realiza*", se ha cumplido; con relación al costo, el análisis se realiza en la prueba de la hipótesis general. En cuanto a los objetivos específicos de los subacápites: 1.4.2.1, 1.4.2.2, 1.4.2.3 y 1.4.2.4 fueron cumplidos, y se presenta en los siguientes párrafos, donde se analizan los conteos mediante el **Procesamiento Digital de Imágenes** (PDI) basados en el algoritmo diseñado, propuesto en la presente investigación, el algoritmos **Redes Neuronales Artificiales** (RNA) y el proceso manual de conteo. Otro aspecto a considerar es que el algoritmo

diseñado, propuesto en la presente investigación para el conteo de células está basado en dos procedimientos: El conteo de glóbulos rojos basado en el algoritmo de Conteo Basado en Áreas y el conteo diferenciado de glóbulos blancos está basado en el algoritmo de Máximos y Mínimos.

5.1.4. Análisis del tiempo de conteo diferenciado de glóbulos blancos entre el proceso de conteo mediante el PDI basado en el algoritmo de RNA y el proceso de conteo manual.

El análisis, relacionado al objetivo presentado en el acápite 1.4.2.1, se realiza mediante el Cuadro 23 donde se presenta los resultados obtenidos de las mediciones efectuadas para el conteo diferenciado de 6 células. El tiempo de conteo diferenciado mediante el Procesamiento Digital de Imágenes basado en RNA fueron extraídas del Cuadro 44 del Anexo 1, del texto de cada imagen de salida, específicamente el parámetro "Elapsed time". En el Cuadro 23, el promedio del tiempo de conteo diferenciado de glóbulos blancos mediante el Procesamiento Digital de Imágenes basado en la Redes Neuronales Artificiales es 19.41 segundos menor que 24.78 segundos realizado por el proceso manual.

Cuadro 23. **Tiempo de conteo diferenciado de glóbulos blancos del algoritmo de RNA y el proceso manual de conteo**

	Algoritmo de RNA	Proceso Manual
Celulas	Tiempo (seg)	Tiempo(seg)
6	18.73	26.41
6	19.15	22.33
6	19.08	25.72
6	19.91	26.82
6	19.4	27.12
6	19.43	22.83
6	19.87	23.33
6	19.6	26.45
6	19.68	22.33
6	19.23	24.47
Promedio	19.41	24.781
Desviación	0.37	1.94

Fuente. Elaboración propia

Considerando que la desviación estándar en cada caso es 0.37 y 1.94 respectivamente, indica que la variabilidad es pequeña en relación al promedio en cada caso, sin embargo la diferencia de tiempo de conteo es 5.57 segundos. Siendo esta diferencia de tiempo no muy significativa para los tiempos en que se realiza el proceso de conteo, lo cual determinó buscar un algoritmo que realice dicho proceso aún en menor tiempo.

5.1.5. Análisis del tiempo de conteo diferenciado de glóbulos blancos entre el algoritmo de RNA y el algoritmo diseñado, propuesto en la presente investigación, ambos aplicados al PDI.

El análisis, relacionado al objetivo presentado en el acápite **1.4.2.2,** se realiza mediante el Cuadro 24 donde se presenta los resultados de las mediciones del tiempo efectuadas para el conteo diferenciado de 6 células registrado en los Cuadros 42 y 43 del Anexo 1, específicamente el parámetro "Elapsed time" (tiempo de ejecución del programa) que se presenta en el texto de la imagen, en la salida de cada corrida de los programas respectivos.

El promedio de tiempo (Elapsed time), de conteo diferenciado de glóbulos blancos mediante el algoritmo diseñado, propuesto en la presente investigación es 2.34 segundos, menor que 19.41 segundos correspondiente al algoritmo de Redes Neuronales Artificiales.

Cuadro 24. **Tiempo de Conteo del Algoritmo de RNA y el Algoritmo propuesto**

Celulas	Algoritmo de RNA Tiempo (seg)	Algoritmo Diseñado Tiempo(seg)
6	18.73	2.43
6	19.15	2.27
6	19.08	2.24
6	19.91	2.07
6	19.4	2.34
6	19.43	2.75
6	19.87	2.37
6	19.6	2.24
6	19.68	2.27
6	19.23	2.41
Promedio	19.41	2.34
Desviación	0.37	0.18

Fuente. Elaboración propia

En el Cuadro 24, la desviación estándar en cada caso es 0.18 y 0.37 respectivamente, indica que la variabilidad es pequeña. Sin embargo, en relación al promedio del tiempo de respuesta de cada algoritmo, la diferencia de tiempos es 17.07 segundos. Considerando la amplia diferencia alcanzada mediante el algoritmo diseñado en la presente investigación, el cual queda establecido como aporte de la presente tesis. En el presente trabajo de investigación se considera al tiempo de respuesta como el parámetro más importante de desempeño del algoritmo diseñado (Curiel, 2017).

5.1.6. Análisis del tiempo de conteo diferenciado de glóbulos blancos entre el algoritmo diseñado, propuesto en la presente investigación y el proceso manual de conteo.

El análisis, relacionado al objetivo presentado en el acápite **1.4.2.3,** se realiza mediante el Cuadro 25 donde se presenta los resultados de las mediciones del tiempo efectuadas para el conteo diferenciado de 6 células registrado en el Cuadros 45 del Anexo 1, específicamente el parámetro “Elapsed time” (tiempo de ejecución del programa) que se presenta en la salida de cada corrida de los programas respectivos. Luego se consideran los tiempos del conteo mediante el proceso manual, el cual comprende el conteo total y el conteo diferenciado, es decir clasificando cada uno de los glóbulos blancos de cada muestra.

El promedio de tiempo (Elapsed time), de conteo diferenciado de glóbulos blancos mediante el algoritmo diseñado, propuesto en la presente investigación es 2.34 segundos, menor que 24.78 segundos correspondiente al proceso de conteo manual.

Cuadro 25. **Tiempo de conteo del algoritmo diseñado y del proceso de conteo manual**

	Algoritmo Diseñado (PDI)	Método Manual
Celulas	2.43	26.41
6	2.27	22.33
6	2.24	25.72
6	2.07	26.82
6	2.34	27.12
6	2.75	22.83
6	2.37	23.33
6	2.24	26.45
6	2.27	22.33
6	2.41	24.47
Promedio	2.34	24.78
Desv. Estand	0.18	1.94

Fuente. Elaboración propia.

En el Cuadro 25, la desviación estándar en cada caso es 0.18 y 1.94 respectivamente, indica que la variabilidad es pequeña. Sin embargo, en relación al promedio del tiempo de respuesta de cada algoritmo, la diferencia de tiempos es 22.44 segundos. Se aprecia una amplia diferencia en el tiempo de conteo en ambos métodos, dada la automatización del proceso de conteo mediante el algoritmo diseñando,

5.1.7. Análisis de la tasa de error de conteo de glóbulos rojos basado en el algoritmo diseñado de procesamiento digital de imágenes propuesto en la presente investigación.

El análisis, relacionado al objetivo presentado en el acápite **1.4.2.3,** se realiza mediante el cuadro 26, donde se presenta los resultados de las mediciones efectuadas para el conteo de glóbulos rojos mediante el procesamiento digital de imágenes basado en el algoritmo diseñado, propuesto en esta investigación, y la tasa de error promedio. El cual es 2.7% menor que 5%. Se tomó como referencia las células

contadas mediante el proceso manual. Se consideró un límite de 5% (Biggs & Macmillan , 1948), donde Biggs considera un rango entre 3.12% y 7.8%, se observa que el resultado es aún menor que este rango.

Considerando que la desviación estándar en cada caso es 1.36 indica que la variabilidad es pequeña en relación al promedio. Considerando la tasa de error alcanzada mediante del algoritmo diseñado en la presente investigación la cual queda establecida como aporte de la presente tesis.

Cuadro 26. **Tasa de error de conteo mediante el algoritmo diseñado, propuesto en presente investigación**

Parámetros		Conteo de G. Rojos
Resolución de imagen		1920x1080 pixeles
Profundidad de la imagen		24 bits
Aumento microcopio		40x
Reactivo		Hayen fd=1/200
Nivel de iluminación		1700 lúmenes
CM (células)	AD (células)	Error (%)
97	100	3.09
104	105	0.96
105	103	1.90
89	90	1.12
99	101	2.02
102	103	0.98
93	96	3.23
101	102	0.99
85	89	4.71
101	100	0.99
97	101	4.12
96	99	3.13
90	94	4.44
87	88	1.15
97	96	1.03
97	100	3.09
100	103	3.00
93	97	4.30
96	100	4.17
92	90	2.17
104	103	0.96
87	89	2.30
103	104	0.97
99	104	5.05
87	90	3.45
101	103	1.98
98	103	5.10
93	94	1.08
94	100	6.38
100	97	3.00
Promedio	98.13	2.70
Desviación std.	5.32	1.56
CM= Conteo manual	AD= Algoritmo diseñado	

Fuente. Elaboración propia

5.1.8. Aspectos adicionales para el conteo de glóbulos rojos y conteo diferenciado de glóbulos blancos.

Para proceso de conteo de células sanguíneas se deben tener en consideración los valores mostrados en el Cuadro 27.

Son valores que deben mantenerse, para garantizar el procesamiento digital de imágenes. Con relación a la Resolución de imagen 1920x1080, este valor es adecuado para poder captar las imágenes, tanto en una cámara fotográfica como en una cámara de video de High Definition (HD). Con relación a la Profundidad de la imagen se indica 24 bit, está referido al modelo de color Red, Green y Blue (RGB), y son 8 bits por cada color, y cuando la imagen se transforma en niveles de gris la profundidad de la Imagen es de 8 bits. En cuanto al Aumento del microscopio este depende si se procesa glóbulos rojos o blancos, en el caso del reactivo es diferente en cada tipo de célula sanguínea. El nivel de iluminación es 1700 lúmenes lo que resulta en una potencia de iluminación de 100watts.

Cuadro 27. **Parámetros de conteo de glóbulos rojos y conteo diferenciado de leucocitos**

Parámetros	Conteo G. Rojos	Conteo G. blancos
Resolución imagen	1920x1080 pixeles	1920x1080
Profundidad de la imagen	24 bits	24 bits
Aumento microscopio	40x	100x
Reactivo	Hayem fd=1/200	Wright
Nivel de iluminación	1700 lumenes	1700 lumenes

Fuente. Elaboración propia

Otro, aspecto a considerar es tener en cuenta que los glóbulos rojos y los glóbulos blancos deben encontrarse dispersos en la muestra de sangre para facilitar su conteo, así como su identificación, todo ello depende del procedimiento de preparación de la muestra mediante el reactivo respectivo.

5.2. Pruebas de hipótesis

Se presentan las pruebas de hipótesis para corroborar las hipótesis planteadas en la presente tesis y presentadas en el Capítulo 3, primero la hipótesis general (acápite 3.1.1) y luego las hipótesis específicas (acápite 3.1.2).

Para los cálculos realizados de cada una de las pruebas de hipótesis, se ha elaborado un programa de cálculo respectivo, mediante el programa Matlab, cuyo código fuente se encuentra en el Anexo 2. Luego, para la gráfica donde se ubica el t_t que sirve analizar el rechazo o la aceptación de la hipótesis nula se emplea el programa StatKey que se encuentra en la dirección web indicada en la fuente de cada figura de la gráfica donde se ubica t_t. Además se ha empleado los programas SPSS y XLSTAT, para evaluar la distribución normal de las muestras de cada experimento y corroborar los resultados de la prueba de hipótesis respectivamente.

Para la prueba de hipótesis general se emplea una prueba no paramétrica, (Gómez, Condado, Adriazola, & Solano, 2005) y a continuación se hace el análisis de costo.

5.2.1. Prueba de la Hipótesis General

La hipótesis general es: *"El diseño de un algoritmo para el conteo de células sanguíneas usando técnicas de procesamiento digital de imágenes permitirá reducir el costo y el tiempo de conteo de células de tejido sanguíneo a partir de las imágenes captadas lo que a su vez mejoraría la eficiencia en la utilización de recursos",* a partir de la cual se realiza la prueba de hipótesis.

.

Se demuestra mediante la siguiente prueba de hipótesis.

Previo a la prueba de hipótesis es necesario realizar la prueba de hipótesis de normalidad de las **muestras de tiempo de conteo manual (CM)** y **muestras de tiempo de conteo con el algoritmo diseñado (AD)** del cuadro 25, para ello se procede a realizar el análisis mediante el programa SPSS.

Prueba de hipótesis de normalidad.

Ho: La muestra evaluada tiene Distribución Normal.
H1: La muestra evaluada no tiene Distribución Normal.

Las muestras evaluadas son: CM y AD

Cuadro 28. **Evaluación de la distribución normal de las muestras CM y AD**

	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
CM	,116	29	,200*	,957	29	,280
AD	,218	29	,001	,869	29	,002

Fuente: Elaboración propia

Del cuadro se debe considerar la prueba de Shapiro-Wilk debido a que la cantidad de 29 muestras es menor que 50 y considerando que nivel de significancia 0.280 de la muestra CM es mayor que 0.05 se acepta la hipótesis nula, con respecto a la muestra AD su nivel de significancia es 0.002 es menor que 0.05 se rechaza la hipótesis nula.

Como resultado de la prueba de normalidad se observa que las muestras del Algoritmo diseñado (AD) no presentan distribución normal. Se aplica la prueba no paramétrica de hipótesis de Wilcoxon y ser muestras relacionadas.

Paso 1: Se plantean las dos hipótesis:
Ho: Hipótesis nula.
H1: Hipótesis alternativa.

PDI: Procesamiento Digital de Imágenes

Ho: $M \geq 291.45$ La mediana M del tiempo de conteo mediante el PDI basado en el algoritmo diseñado (AD), propuesto en la presente investigación es mayor **igual** a 291.45 seg. mediana del conteo manual (CM) .

H1: $M < 291.45$ La mediana del tiempo de conteo mediante el PDI basado en el algoritmo diseñado (AD), propuesto en la presente investigación es **menor** que 291.45 seg. mediana del conteo manual (CM).

Paso 2: Se toma una muestra aleatoria de tamaño n=29, se realizan los cálculos para obtener la estadística de prueba.

Cuadro 29. **Determinación de rangos de las muestras CM y AD**

Orden	AD(seg.)	CM(seg)	Xi-Mo	|Xi-Mo|	ord|Xi-Mo|	Asing. Rango	D-	D+
1	3.43	269	-265.57	265.57	221.16	1	1	
2	3.32	266.7	-263.38	263.38	251.18	2	2	
3	3.27	269.55	-266.28	266.28	263.38	3	3	
4	3.25	277.05	-273.80	273.80	265.57	4	4	
5	3.55	273.25	-269.70	269.70	266.28	5	5	
6	3.45	280.4	-276.95	276.95	269.70	6	6	
7	3.34	291.45	-288.11	288.11	272.87	7	7	
8	3.26	303.2	-299.94	299.94	273.45	8	8	
9	3.58	280.9	-277.32	277.32	273.80	9	9	
10	3.3	314.15	-310.85	310.85	275.56	10	10	
11	3.31	295.4	-292.09	292.09	276.95	11	11	
12	3.18	291.25	-288.07	288.07	277.32	12	12	
13	3.27	300.5	-297.23	297.23	279.85	13	13	
14	3.22	254.4	-251.18	251.18	288.07	14	14	
15	3.27	310.7	-307.43	307.43	288.11	15	15	
16	3.24	224.4	-221.16	221.16	289.01	16	16	
17	3.29	292.3	-289.01	289.01	289.58	17	17	
18	3.24	299.55	-296.31	296.31	292.09	18	18	
19	3.29	305.2	-301.91	301.91	293.93	19	19	
20	4.01	311.25	-307.24	307.24	296.31	20	20	
21	3.48	276.35	-272.87	272.87	297.23	21	21	
22	3.8	283.65	-279.85	279.85	299.94	22	22	
23	3.6	317.5	-313.90	313.90	301.91	23	23	
24	4.07	322.35	-318.28	318.28	307.24	24	24	
25	3.87	297.8	-293.93	293.93	307.43	25	25	
26	3.62	293.2	-289.58	289.58	310.36	26	26	
27	3.69	314.05	-310.36	310.36	310.85	27	27	
28	3.84	279.4	-275.56	275.56	313.90	28	28	
29	3.8	277.25	-273.45	273.45	318.28	29	29	
Promedio	3.34	291.45	CÁLCULOS PARA DETERMINAR LOS RANGOS			Suma	435	0
Desviación std	0.26	21.22				Rangos	T-	T+
CM= Conteo manual	AD= Algoritmo diseñado		Mo= CM Xi=AD D- = Diferencias negativas			D+= Diferencias posistivas		

Fuente: Elaboración propia

Dónde:

M: Mediana del tiempo de conteo mediante el PDI basado en AD

T^+: Suma de rangos positivos

T^-: Suma de rangos negativos

T_c: T calculado

T_t: T teórico

α: Nivel de significación 0.05

Estadística de prueba:

$T^+ = 0$ Ver Cuadro 29

Paso 3: Obtención de la región crítica,

Considerando que: $T^+=Tc$ y $T^+ \leq Tt$

Recurriendo al cuadro del anexo 3 de Valores críticos de la prueba de Wilcoxon donde Tt es 141 (Anexo3 y Figura 142) hipótesis de una cola (unilateral) y se considera Tc = 0

Paso 4: Decisión

Como el valor de Tc=0 cae dentro de la región de rechazo de Ho tal como se indica en el paso 3. Se concluye que la mediana del tiempo de conteo mediante el PDI basado en el algoritmo diseñado, propuesto en la presente investigación, es menor que 291.45 segundos. Ver en la Figura 128, donde mediante el programa XLSTAT se realiza la prueba, obteniéndose el mismo resultado.

Cuadro 30. **Tabla de tiempo de conteo de 5 cuadriculas mediante el proceso de conteo manual y el conteo en algoritmo diseñado propuesto en la presente investigación-**

Parámetros		Conteo de G. Rojos
Resolución de imagen		1920x1080 pixeles
Profundidad de la imagen		24 bits
Aumento microcopio		40x
Reactivo		Hayen fd=1/200
Nivel de iluminación		1700 lúmenes
Nº cel	CM (seg.)	AD(seg.)
484	269	3.43
483	266.7	3.32
485	269.55	3.27
489	277.05	3.25
490	273.25	3.55
490	280.4	3.45
494	291.45	3.34
501	303.2	3.26
499	280.9	3.58
502	314.15	3.30
500	295.4	3.31
485	291.25	3.18
489	300.5	3.27
487	254.4	3.22
500	310.7	3.27
477	224.4	3.24
493	292.3	3.29
494	299.55	3.24
503	305.2	3.29
504	311.25	4.01
485	276.35	3.48
489	283.65	3.80
508	317.5	3.60
505	322.35	4.07
500	297.8	3.87
500	293.2	3.62
509	314.05	3.69
492	279.4	3.84
489	277.25	3.80
484	264.4	3.87
CM= Conteo manual AD= Algoritmo Diseñado		

Fuente. Elaboración propia

El tiempo medido para el Método Manual se efectuó con un cronómetro de mano, y el tiempo medido del proceso mediante PDI basado en el algoritmo propuesto en la presente investigación se extrajo del Cuadro 43 del Anexo 1, específicamente del parámetro “Elapsed time” de la salida de cada corrida.

- ***Costos del conteo de glóbulos blancos y glóbulos rojos***

Como consecuencia del desarrollo del Método de conteo de células sanguíneas mediante el Procesamiento Digital Imágenes basado en el algoritmo diseñado se reduce el costo y se incrementa la productividad.

Cuadro 31. **Costo del servicio de conteo de células sanguíneas**

Método	Personal	Tiempo	Servicios	Honorarios/mes	Honorarios/hora	Materiales y otros	Costo/Análisis
Manual	2 tecnologos	1 hora	4 analisis	S/. 4,104	S/. 26	S/. 7.4	S/. 14
Algoritmo Diseñado(PDI)	1 tecnologo	1 hora	8 analisis	S/. 2,052	S/. 13	S/. 5.6	S/. 7

Fuente: (MTPE, 2017) (HNAL, 2017)

En el caso del servicio de recuento de células se observa en el Cuadro 31, se reduce el costo del servicio al reducir el personal profesional que ejecuta el servicio de dos a una persona en este caso se trata de un Tecnólogo Médico, y se reduce el tiempo del servicio a la mitad del tiempo. Debido a que en una hora se realiza el doble del número de conteo de células sanguíneas que con el método manual. Por otro lado la productividad se incrementa al hacer más recuentos de células en la misma unidad de tiempo.

El servicio de recuento de células comienza con la extracción de sangre del paciente, luego los preparativos de la muestra de la sangre para ser analizada por el especialista en este caso el tecnólogo médico y finalmente el recuento de células observadas a través del microscopio, por ejemplo del recuento de células tipo glóbulos rojos por el método manual dura en promedio 288 segundos y el Método Basado en el Procesamiento Digital de imágenes (PDI) o Método Basado en Estimación de Áreas 3.5 segundos.

La hipótesis general se cumple verificándose con el algoritmo diseñado que permite reducir el costo y el tiempo de conteo de células sanguíneas mediante el PDI.

5.2.2. Prueba de Hipótesis Específica: Subacápite 3.1.2.1

Sea la hipótesis: *"La aplicación del procesamiento digital de imágenes basado en el algoritmo de Redes Neuronales Artificiales permitirá realizar el conteo diferenciado de glóbulos blancos en menor tiempo que el proceso manual de conteo".*

Se demuestra mediante la siguiente prueba de hipótesis.

Previo a la prueba de hipótesis es necesario realizar la prueba de hipótesis de normalidad de las muestras Algoritmo_RNA y Método_manual del cuadro referente para ello se procede a realizar el análisis mediante el programa SPSS.

Prueba de hipótesis de normalidad.

Ho: La muestra evaluada tiene Distribución Normal.
H1: La muestra evaluada no tiene Distribución Normal.

Muestra evaluada: Algoritmo_RNA y Método_mnual

Cuadro 32. **Evaluación de la distribución normal de las muestras Algortmo_RNA y Método_manual**

	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Algoritmo_RNA	,097	10	,200*	,969	10	,880
Meteodo_manual	,199	10	,200*	,868	10	,094

Fuente: Elaboración propia.

Del cuadro se debe considerar la prueba de Shapiro-Wilk debido a que la cantidad de 10 muestras es menor que 50 y considerando que el nivel de significancia 0.880 de la muestra Algoritmo_RNA es mayor que 0.05 se acepta la hipótesis nula, con respecto de la muestra Método_manual su nivel de

significancia es 0.094 es mayor que 0.05, se acepta la hipótesis nula.

Como resultado de la prueba de normalidad se observa que las muestras de Algoritmo_RNA y Método manual presentan distribución normal. Se aplica la prueba paramétrica de hipótesis de **t de Student** para muestras dependientes.

Paso 1: Se plantean las dos hipótesis

Ho: Hipótesis nula.
H1: Hipótesis alternativa.

PDI: Procesamiento Digital de Imágenes
RNA: Redes Neuronales Artificiales

Ho: $\mu 1=\mu 2$ El tiempo $\mu 1$ de conteo de glóbulos blancos mediante PDI basado en el algoritmo de RNA (Algoritmo_RNA) es **igual** que el tiempo promedio $\mu 2$=24.78seg. proceso manual (Método_manual). Contraste de hipótesis unilateral.

H1: $\mu 1< \mu 2$ El tiempo $\mu 1$ de conteo de glóbulos blancos mediante PDI basado en el algoritmo de RNA (Algoritmo_RNA) es **menor** que el tiempo promedio $\mu 2$=24.78seg. proceso manual (Método_manual).

Paso 2: Cálculo de los valores de las muestras y tc

Del Cuadro 33 se tiene lo siguiente:

n=10 Es el número de muestras dependientes

$\overline{x_1} = 19.41$ Es la media de Algoritmo_RNA

$\overline{x_2} = 24.78$ Es la media de Método manual.

$\overline{x_1} - \overline{x_2} = -5.37$ Es el promedio de Diferencia

$S_D = 2.02$ Desviación estándar de Diferencia

$\mu_1 - \mu_2 = 0$ Diferencia de medias de Ho

k = 9 Es el número de grados de libertad.

t_c: t calculado

t_t: t teórico

Determinando tc

$$t_c = \frac{(\overline{x_1} - \overline{x_2}) - (\mu_1 - \mu_2)}{\frac{S_D}{\sqrt{n}}}$$

$$t_c = \frac{-5.37 - 0}{\frac{2.02}{\sqrt{10}}}$$

$$t_c = -8.406$$

Paso 3: Se determina la región crítica

Si $\alpha = 0.05$ nivel de significación entonces t_t= -1.833 verificación en la tabla de T-Student en la Figura 143 (Anexo 3). La región se gráfica en la Figura 130.

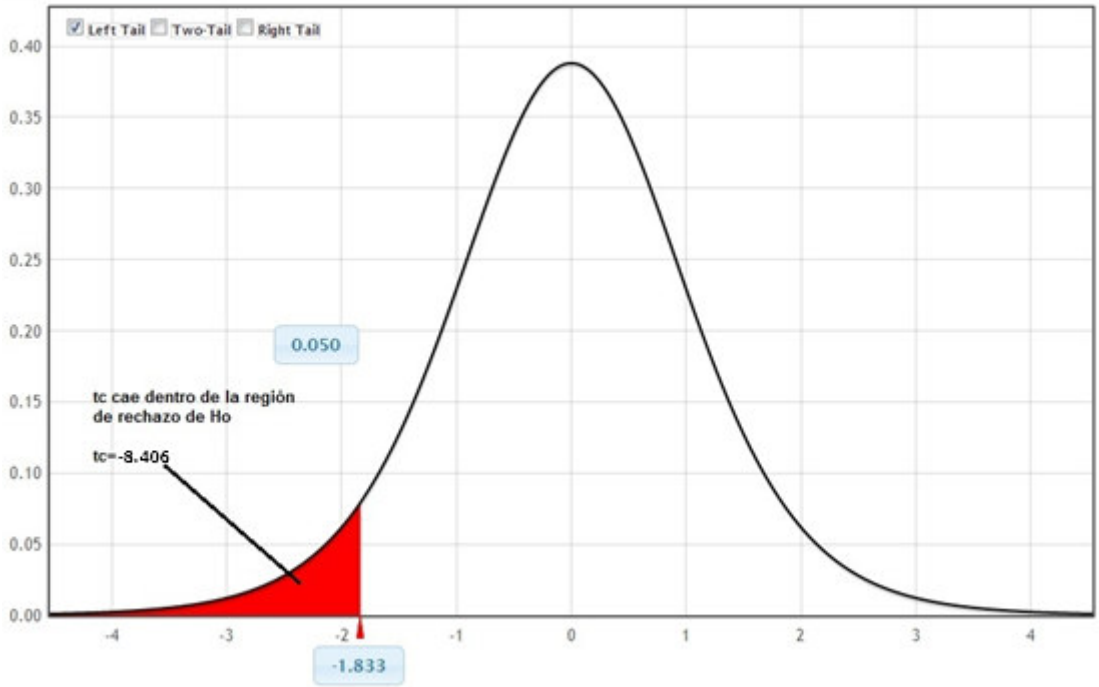


Figura 130. **Distribución T-Student con la determinación de t_t=-2.25. Contraste unilateral.**
Fuente. http://www.lock5stat.com/StatKey/theoretical_distribution/theoretical_distribution.html#t

Paso 4: Decisión

Como el valor de tc=-8.406 está dentro de la región de rechazo de Ho. Se concluye que el tiempo de conteo de glóbulos blancos mediante PDI basado en el algoritmo de RNA es **menor** que el proceso manual de conteo. Esto, verifica lo establecido en la hipótesis específica analizada. Ver la Figura 145 del Anexo 3 donde se presenta la prueba realizada con el programa XLSTAT, obteniéndose el mismo resultado. También se desarrolló un programa en Matlab que permita corroborar los cálculos respectivos, el cual, se presenta en el Código de programa 39 en el Anexo 2.

Cuadro 33. **Cuadro de tiempos de conteo diferenciado de glóbulos blancos mediante PDI basado en el algoritmo de RNA y el tiempo conteo del proceso manual de conteo.**

	Algoritmo de RNA	Proceso Manual	Diferencia
Celulas	Tiempo (seg)	Tiempo(seg)	Tiempo(seg)
6	18.73	26.41	-7.68
6	19.15	22.33	-3.18
6	19.08	25.72	-6.64
6	19.91	26.82	-6.91
6	19.4	27.12	-7.72
6	19.43	22.83	-3.4
6	19.87	23.33	-3.46
6	19.6	26.45	-6.85
6	19.68	22.33	-2.65
6	19.23	24.47	-5.24
Promedio	19.41	24.781	-5.373
Desviación	0.37	1.94	2.02

Fuente: Elaboración propia.

Los tiempos de conteo mediante el PDI basado en el algoritmo RNA son claramente reducidos con respecto al tiempo de conteo manual, más aun si consideramos sus promedios respectivos de 19.41 segundos y 24.78 segundos. El tiempo medido por el proceso manual de conteo se efectuó con un cronómetro de mano, y el tiempo medido mediante el PDI se efectuó empleando un aplicativo de Matlab, el cual fue extraído del cuadro 44 del Anexo 1, específicamente del parámetro "Elapsed time", del texto de la imagen de cada salida correspondiente a la corrida respectiva del programa que ejecuta el algoritmo basado en RNA.

5.2.3. Prueba de Hipótesis Específica: Subacápite 3.1.2.2.

Sea la hipótesis: *"El tiempo de conteo diferenciado de glóbulos blancos usando el* ***algoritmo propuesto*** *en esta investigación será menor que usando el* ***algoritmo de Redes Neuronales Artificiales****, ambos aplicados en el procesamiento digital de imágenes".*

Se demuestra mediante la siguiente prueba de hipótesis.

Previo a la prueba de hipótesis es necesario realizar la prueba de hipótesis de normalidad de las muestras usando algoritmo de redes neuronales artificiales (Algoritmo_RNA) y el algoritmo propuesto (Algoritmo_Diseñado) del cuadro 13, para ello se procede a realizar el análisis mediante el programa SPSS.

Prueba de hipótesis de normalidad.

Ho: La muestra evaluada tiene Distribución Normal.
H1: La muestra evaluada no tiene Distribución Normal.

Muestra evaluada: Algoritmo diseñado y Algoritmo_RNA,
se evalúan por separado.

Cuadro 34. **Evaluación de la distribución normal de las muestras Algoritmo_RNA y Algoritmo_diseñado**

	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Algoritmo_RNA	,097	10	,200*	,969	10	,880
Algoritmo_diseñado	,204	10	,200*	,893	10	,182

Fuente: Elaboración propia

Del cuadro se debe considerar la prueba de Shapiro-Wilk debido a que la cantidad de 10 muestras es menor que 50 y considerando que el nivel de significancia 0.340 de la muestra Algoritmo_RNA es mayor que 0.05 se acepta la hipótesis nula, y con respecto de la muestra Algoritmo_diseñado y su nivel de significancia es 0.182 es mayor que 0.05, se acepta la hipótesis nula.

Como resultado de la prueba de normalidad se observa que las muestras de Algoritmo_RNA y Algoritmo_diseñado presentan distribución normal. Se aplica la prueba paramétrica de hipótesis de **t de Student** para muestras dependientes.

Paso 1: Se plantean las dos hipótesis

Ho: Hipótesis nula.
H1: Hipótesis alternativa.

PDI: Procesamiento Digital de Imágenes
RNA: Redes Neuronales Artificiales

Ho: $\mu 1 = \mu 2$ El promedio de tiempo de conteo diferenciado de glóbulos blancos usando el algoritmo diseñado en esta investigación será **igual** que usando el algoritmo de Redes Neuronales Artificiales. Contraste unilateral de hipótesis.

H1: $\mu 1 < \mu 2$ El promedio de tiempo de conteo diferenciado de glóbulos blancos usando el algoritmo diseñado en esta investigación será **menor** que usando el algoritmo de Redes Neuronales Artificiales.

Paso 2: Cálculo de los valores de las muestras y tc

Del Cuadro 33 se tiene lo siguiente:

n=10 Es el número de muestras dependientes

$\overline{x_1} = 2.34$ Es la media de Algoritmo Diseñado

$\overline{x_2} = 19.41$ Es la media de Algoritmo RNA.

$\overline{x_1} - \overline{x_2} = -17.069$ Es el promedio de Diferencia

$S_D = 0.456$ Desviación estándar de Diferencia

$\mu_1 - \mu_2 = 0$ Diferencia de medias de Ho

k = 9 Es el número de grados de libertad.

t_c: t calculado

t_t: t teórico

Determinando tc

$$t_c = \frac{(\overline{x_1} - \overline{x_2}) - (\mu_1 - \mu_2)}{\frac{S_D}{\sqrt{n}}}$$

$$t_c = \frac{-17.069 - 0}{\frac{0.456}{\sqrt{10}}}$$

$$t_c = -118.36$$

Paso 3: Se determina la región crítica

Si $\alpha = 0.05$ nivel de significación entonces t_t= -1.833 verificación en la tabla de T-Student en la Figura 143 (Anexo 3). Se gráfica en la Figura 131.

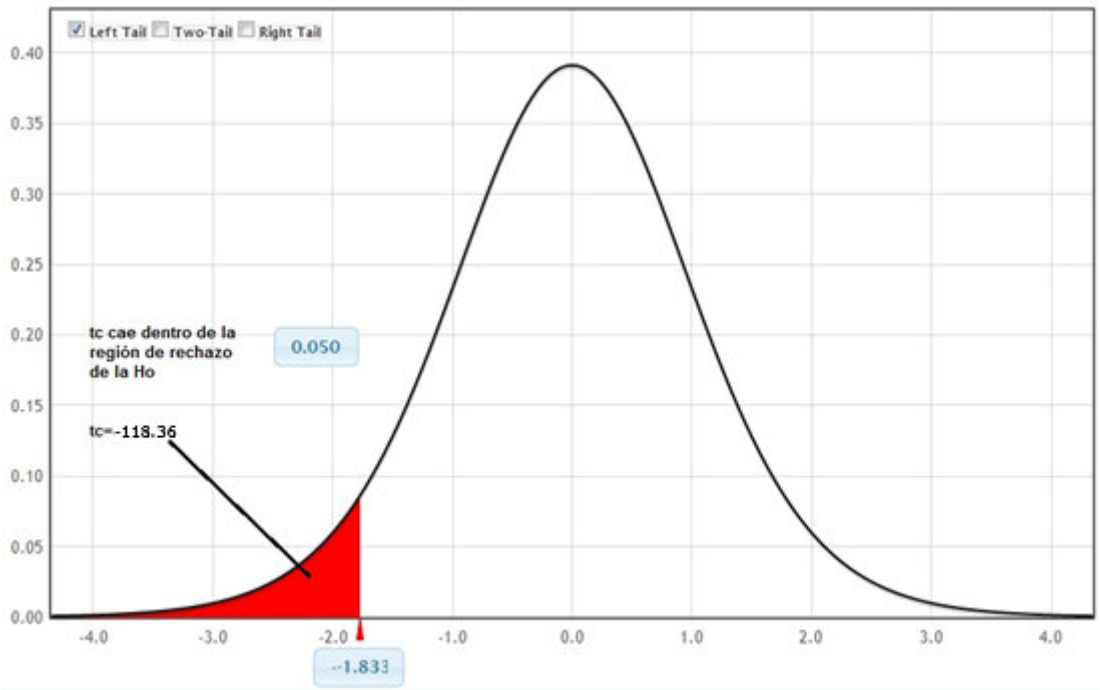


Figura 131. **Distribución T-Student con la determinación de t_t=-2.16**.
Fuente. http://www.lock5stat.com/StatKey/theoretical_distribution/theoretical_distribution.html#t

Paso 4: Decisión

Como el valor de tc=-118.36 está dentro de la región de rechazo de Ho. Se concluye que el promedio de tiempo de conteo diferenciado de glóbulos blancos usando el algoritmo propuesto en esta investigación será **menor** que usando el algoritmo de Redes Neuronales Artificiales. Esto, verifica con el programa XLSTAT en el Anexo 3 en la Figura 146. Asimismo, se desarrolló un programa en Matlab que permita realizar los cálculos necesarios para demostrar la hipótesis, el cual, se presenta en el Código de programa 40 en el Anexo 2.

Cuadro 35. **Cuadro de tiempos del método de conteo manual de glóbulos blancos y el método Máximos y mínimos de Procesamiento digital de imágenes**

Celulas	Algoritmo Diseñado Tiempo (seg)	Algoritmo de RNA Tiempo(seg)	Diferencia
6	2.43	18.73	-16.3
6	2.27	19.15	-16.88
6	2.24	19.08	-16.84
6	2.07	19.91	-17.84
6	2.34	19.4	-17.06
6	2.75	19.43	-16.68
6	2.37	19.87	-17.5
6	2.24	19.6	-17.36
6	2.27	19.68	-17.41
6	2.41	19.23	-16.82
Promedio	2.34	19.41	-17.07
Desviación	0.18	0.37	0.46

Fuente: Elaboración propia.

Los tiempos de conteo mediante PDI basado en el algoritmo propuesto en la presente investigación son claramente reducidos con respecto al tiempo de conteo efectuado con el PDI basado en el algoritmo de RNA, más aun si consideramos sus promedios respectivos de 2.34 segundos y 19.41 segundos. La información del tiempo fue extraída de los Cuadros 45 y 44 respectivamente del Anexo 1, específicamente del parámetro "Elapsed time" del texto de la imagen de salida de cada corrida respectiva.

5.2.4. Prueba de Hipótesis Específica: Subacápite 3.1.2.3.

Sea la hipótesis: *"El tiempo de conteo diferenciado de células sanguíneas como los glóbulos blancos mediante el PDI basado en el algoritmo diseñado, propuesto en la presente investigación sea menor que el conteo mediante el proceso manual".*

Se demuestra mediante la siguiente prueba de hipótesis.

Previo a la prueba de hipótesis es necesario realizar la prueba de hipótesis de normalidad de las muestras Método_manual y Algoritmo_Diseñado del cuadro referente para ello se procede a realizar el análisis mediante el programa SPSS.

Prueba de hipótesis de normalidad.

Ho: La muestra evaluada tiene Distribución Normal.
H1: La muestra evaluada no tiene Distribución Normal.

Muestras evaluadas: Algorítmo_diseñado y Método_manual

Cuadro 36. **Evaluación de la distribución normal de las muestras Algoritmo diseñado y Método manual**

	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Algoritmo_diseñado	.204	10	,200*	.893	10	.182
Meteodo_manual	.199	10	,200*	.868	10	.094

Fuente: Elaboración propia

Del cuadro se debe considerar la prueba de Shapiro-Wilk debido a que la cantidad de 10 muestras es menor que 50 y considerando que nivel de significancia 0.182 de la muestra Algorítmo_diseñado es mayor que 0.05 se acepta la hipótesis nula, con respecto de la muestra Método manual su nivel de significancia es 0.094 es mayor que 0.05 se acepta la hipótesis nula.

Como resultado de la prueba de normalidad se observa que las muestras de Algoritmo_diseñado y Método manual presentan distribución normal. Se aplica la prueba paramétrica de hipótesis de **t de Student** para muestras dependientes.

Paso 1: Se plantean las dos hipótesis

Ho: Hipótesis nula:
H1: Hipótesis alternativa.

Ho: $\mu 1 = \mu 2$ El promedio de tiempo de conteo diferenciado de células sanguíneas como los glóbulos blancos mediante el PDI basado en el algoritmo diseñado, propuesto en la presente investigación es **igual** al promedio de tiempo de conteo mediante el proceso de conteo manual. Contraste de hipótesis unilateral.

H1: $\mu 1 < \mu 2$ El promedio de tiempo de conteo diferenciado de células sanguíneas como los glóbulos blancos mediante el PDI basado en el algoritmo diseñado, propuesto en la presente investigación es **menor** al promedio de tiempo de conteo mediante el proceso de conteo manual.

Paso 2: Cálculo de los valores de las muestras y t_c

Del Cuadro 33 se tiene lo siguiente:

n=10	Es el número de muestras dependientes
$\overline{x_1} = 2.34$	Es la media de Algoritmo Diseñado
$\overline{x_2} = 24.78$	Es la media del conteo manual.
$\overline{x_1} - \overline{x_2} = -22.44$	Es el promedio de Diferencia
$S_D = 2.02$	Desviación estándar de Diferencia
$\mu_1 - \mu_2 = 0$	Diferencia de medias de Ho
k = 9	Es el número de grados de libertad.
t_c:	t calculado
t_t:	t teórico

Determinando tc

$$t_c = \frac{(\overline{x_1} - \overline{x_2}) - (\mu_1 - \mu_2)}{\frac{S_D}{\sqrt{n}}}$$

$$t_c = \frac{-22.44 - 0}{\frac{2.02}{\sqrt{10}}}$$

$$t_c = -35.10$$

Paso 3: Se determina la región crítica

Si $\alpha = 0.05$ nivel de significación entonces t_t= -1.833 verificación en la tabla de T-Student en la Figura 143 (Anexo 3). Se gráfica en la Figura 132.

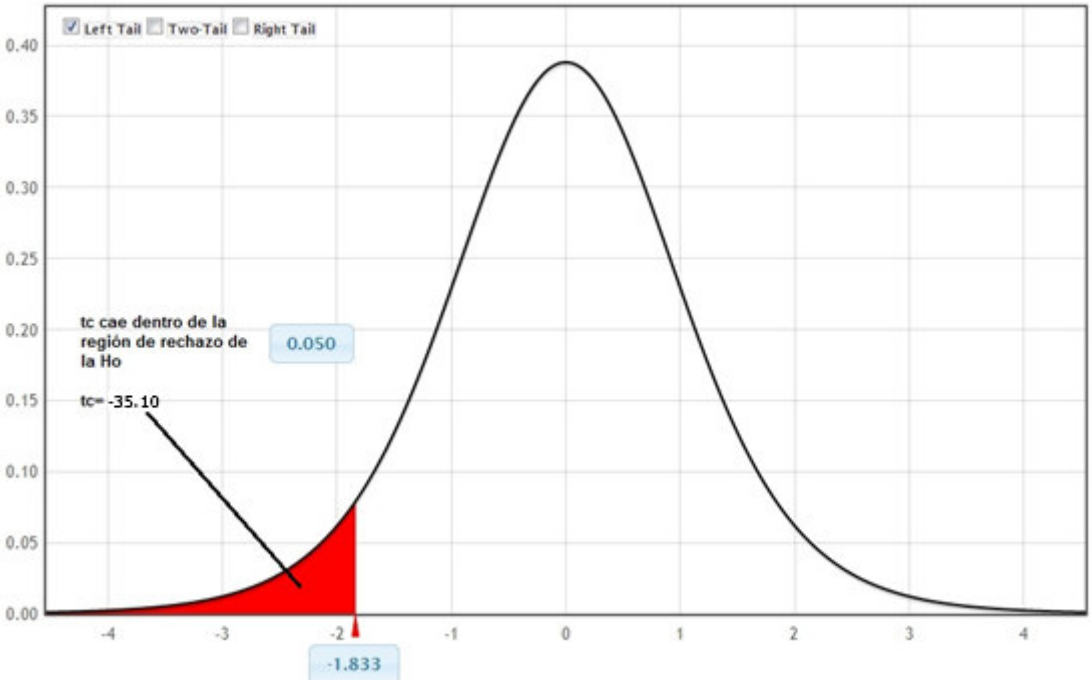


Figura 132. **Distribución T-Student con la determinación de t_t=-2.25**.
Fuente. http://www.lock5stat.com/StatKey/theoretical_distribution/theoretical_distribution.html#t

Paso 4: Decisión

Como el valor de tc=-35.10 está dentro de la región de rechazo de Ho. Se concluye que el promedio de tiempo de conteo diferenciado de células sanguíneas como los glóbulos blancos mediante el PDI basado en el algoritmo diseñado, propuesto en la

presente investigación es **menor** al promedio de tiempo de conteo mediante el proceso de conteo manual. Esto, se verifica con el programa XLSTAT en el Anexo 3 en la Figura 147, y por medio del programa respectivo, elaborado en Matlab, el cual se presenta en el Código de programa 41 en el Anexo 2.

Cuadro 37. **Cuadro de tiempos del método de conteo manual de glóbulos blancos y el Algoritmo Diseñado, propuesto en la presente investigación**

Parámetros		**Conteo G. blancos**	
Resolución de imagen		1920x1080	
Profundidad de la imagen		24 bits	
Aumento del microscopio		100x	
Reactivo		Wright	
Nivel de iluminación		1700 lúmenes	
	Algoritmo Diseñado (PDI)	Método Manual	Diferencia
Celulas	Tiempo(seg)	Tiempo(seg)	Tiempo(seg)
6	2.43	26.41	-23.98
6	2.27	22.33	-20.06
6	2.24	25.72	-23.48
6	2.07	26.82	-24.75
6	2.34	27.12	-24.78
6	2.75	22.83	-20.08
6	2.37	23.33	-20.96
6	2.24	26.45	-24.21
6	2.27	22.33	-20.06
6	2.41	24.47	-22.06
Promedio	2.34	24.78	-22.44
Desv. Estand	0.18	1.94	2.02

Fuente: Elaboración propia.

Los tiempos de conteo mediante el método de Máximos y Mínimos son claramente reducidos con respecto al tiempo de conteo efectuado con el Método Manual, más aun si consideramos sus promedios respectivos de 2.2 segundos. y 24.7 segundos. El tiempo medido para el Método Manual se efectuó con un cronómetro de mano, y el tiempo medido por el Método Máximos y Mínimos se efectuó a través un aplicativo de Matlab. Los tiempos del Algoritmo Diseñado fueron extraídos del Cuadro 45 del Anexo, específicamente del parámetro "Elapsed time" del texto de la imagen de salida de cada corrida.

5.2.5. Prueba de Hipótesis Específica: Subacápite 3.1.2.4.

Sea la hipótesis: *"La tasa de error de conteo de glóbulos rojos usando el algoritmo de procesamiento digital de imágenes propuesto en esta investigación no superará el 5%".*

En la hipótesis la tasa de error, se refiere al error relativo obtenido mediante el PDI basado en el algoritmo diseñado, propuesto en esta investigación es menor que 5%. El cual es definido como al valor absoluto del error absoluto dividido entre el conteo manual (valor medido) este resultado multiplicado por 100.

$$Error(\%) = \frac{|CM - CAD|}{CM}\ x\ 100$$

Dónde:

CM: Conteo manual
CAD: Conteo basado en el algoritmo diseñado.
$M - CAD$: Error absoluto
$|CM - CAD|$: Valor absoluto del Error absoluto
$Error(\%)$: Error relativo

La hipótesis se prueba siguiendo el siguiente procedimiento:

Previo a la prueba de hipótesis es necesario realizar la prueba de hipótesis de normalidad de la muestra en este caso la variable Error (%) del cuadro referente para ello se procede a realizar el análisis mediante el programa SPSS.

Prueba de hipótesis de normalidad.

Ho: La variable de tasa de error tiene distribución normal.

H1: La variable de tasa de error no tiene Distribución Normal.

Cuadro 38. **Evaluación de la distribución normal de las muestras**

	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Error (%)	,179	29	,019	,900	29	,010

Fuente: Elaboración propia

Del cuadro se debe considerar la prueba de Shapiro-Wilk debido a que la cantidad de 29 muestras es menor que 50 y considerando que nivel de significancia 0.010 es menor que 0.05 se rechaza la hipótesis nula.

Considerando que la prueba de normalidad indica que la muestra no tiene Distribución Normal se aplica la prueba de hipótesis no paramétrica de Wilcoxon para una muestra.

Paso 1: Se plantean las dos hipótesis:

Ho: Hipótesis nula.

H1: Hipótesis alternativa.

PDI: Procesamiento Digital de Imágenes

Ho: M≥5% La mediana de la tasa de error usando el PDI basado en el algoritmo diseñado (AD), propuesto en la presente investigación es mayor **igual** 5%.

H1: M < 5% La mediana de la tasa de error usando el PDI basado en el algoritmo diseñado, propuesto en la presente investigación es **menor** que 5%.

Paso 2: Se toma una muestra aleatoria de tamaño n=30, se realizan los cálculos para obtener la estadística de prueba.

Cuadro 39. **Determinación de los rangos para la Prueba de Hipótesis de Wilcoxon**.

CM (células)	AD (células)	Error (%)	Mo = 5%	Xi-Mo	|Xi-Mo|	Orden	ord|Xi-Mo|	Asing. Rango	D-	D+
99	104	3.09	5	-1.91	1.91	1	0.05	1	1	
98	103	0.96	5	-4.04	4.04	2	0.10	2	2	
85	89	1.90	5	-3.10	3.10	3	0.29	3	3	
90	94	1.12	5	-3.88	3.88	4	0.70	4	4	
93	97	2.02	5	-2.98	2.98	5	0.83	5	5	
96	100	0.98	5	-4.02	4.02	6	0.88	6	6	
97	101	3.23	5	-1.77	1.77	7	1.38	7	7	
94	100	0.99	5	-4.01	4.01	8	1.55	8	8	
87	90	4.71	5	-0.29	0.29	9	1.77	9	9	
93	96	0.99	5	-4.01	4.01	10	1.91	10.5	10.5	
96	99	4.12	5	-0.88	0.88	11	1.91	10.5	10.5	
97	100	3.13	5	-1.88	1.88	12	2.00	12.5	12.5	
97	100	4.44	5	-0.56	0.56	13	2.00	12.5	12.5	
100	103	1.15	5	-3.85	3.85	14	2.70	14	14	
100	97	1.03	5	-3.97	3.97	15	2.83	15.5	15.5	
87	89	3.09	5	-1.91	1.91	16	2.83	15.5	15.5	
92	90	3.00	5	-2.00	2.00	17	2.98	17	17	
99	101	4.30	5	-0.70	0.70	18	3.02	18	18	
101	103	4.17	5	-0.83	0.83	19	3.10	19	19	
105	103	2.17	5	-2.83	2.83	20	3.88	19	19	
87	88	0.96	5	-4.04	4.04	21	3.92	21.5	21.5	
89	90	2.30	5	-2.70	2.70	22	3.92	21.5	21.5	
93	94	0.97	5	-4.03	4.03	23	3.97	23	23	
97	96	5.05	5	0.05	0.05	24	4.01	24.5		24.5
101	102	3.45	5	-1.55	1.55	25	4.01	24.5	24.50	
101	100	1.98	5	-3.02	3.02	26	4.02	26.5	26.50	
102	103	5.10	5	0.10	0.10	27	4.02	26.5		26.5
103	104	1.08	5	-3.92	3.92	28	4.03	28	28.00	
104	105	6.38	5	1.38	1.38	29	4.04	29.5		29.5
Promedio	97.97	2.69	CALCULOS PARA DETERMINAR LOS RANGOS					Suma	354	80.5
Desviación std	5.34	1.58						Rangos	T-	T+
CM= Conteo manual AD= Algoritmo diseñado			Mo= Mediana Xi=Error(%) D- = Diferencias negativas D+= Diferencias posistivas							

Fuente: Elaboración propia

Dónde:

M: Mediana de la tasa de Error usando PDI basado en AD

T^+: Suma de rangos positivos

T^-: Suma de rangos negativos

T_c: T calculado

T_t: T teórico

Estadística de prueba:

$T^+ = 80.5$ Ver Cuadro 39

Paso 3: Obtención de la región crítica,

Considerando que: $T^+=Tc$ y $T^+ \leq Tt$

Recurriendo al cuadro del anexo 3 de Valores críticos de la prueba de Wilcoxon donde Tt es 141 (Anexo3 y Figura 142) hipótesis de una cola (unilateral) y se considera Tc = 80.5

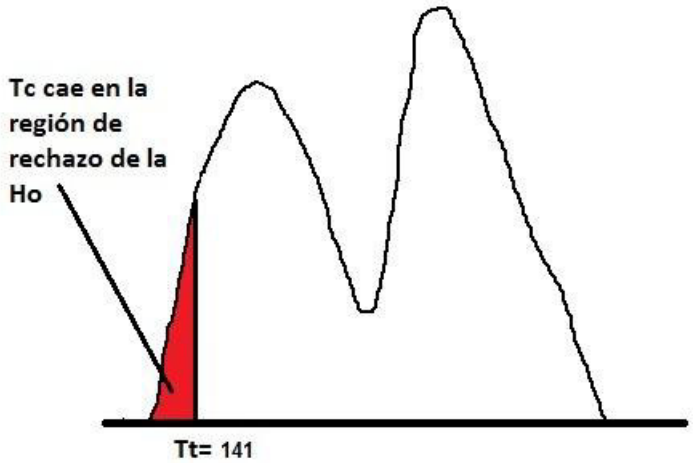


Figura 133. **Ubicación de Tc en la distribución.**

Fuente. Elaboración propia

Paso 4: Decisión

Analizando la Figura 133, se observa que como el valor de Tc=80.5 cae dentro de la región de rechazo de Ho. Se concluye que la mediana de la tasa de error usando el PDI basado en el algoritmo diseñado, propuesto en la presente investigación, es menor que 5%. Ver en la Figura 148 en el Anexo 3, donde mediante el programa XLSTAT se realiza la prueba, obteniéndose el mismo resultado.

Cuadro 40. **Tabla del error entre el conteo manual y el conteo mediante el PDI basado en el algoritmo diseñado, propuesto en la presente investigación**

Parámetros		**Conteo de G. Rojos**
Resolución de imagen		1920x1080 pixeles
Profundidad de la imagen		24 bits
Aumento microcopio		40x
Reactivo		Hayen fd=1/200
Nivel de iluminación		1700 lúmenes
CM (células)	AD (células)	Error (%)
97	100	3.09
104	105	0.96
105	103	1.90
89	90	1.12
99	101	2.02
102	103	0.98
93	96	3.23
101	102	0.99
85	89	4.71
101	100	0.99
97	101	4.12
96	99	3.13
90	94	4.44
87	88	1.15
97	96	1.03
97	100	3.09
100	103	3.00
93	97	4.30
96	100	4.17
92	90	2.17
104	103	0.96
87	89	2.30
103	104	0.97
99	104	5.05
87	90	3.45
101	103	1.98
98	103	5.10
93	94	1.08
94	100	6.38
CM= Conteo manual	AD= Algoritmo Diseñado(PDI)	

Fuente. Elaboración propia.

El conteo de las células se efectuó en imágenes de las cuadriculas de la Cámara de Neubauer. Los valores de la columna de Error (%) corresponden a los errores relativos en porcentaje. El promedio de Error (%) es 2.55% menor a 5%. Se cumple la Hipótesis de la Tesis planteada en relación a que la tasa de Error (%) es menor que 5% con el método propuesto.

CAPITULO 6: IMPACTOS

En el presente capítulo se aborda las aplicaciones de los desarrollos de la presente Tesis que están orientados hacia los servicios de laboratorio clínicos, investigación y capacitación, considerando sus aplicaciones e implementaciones.

6.1. Conteo de glóbulos rojos o Eritrócitos

Mediante el conteo de glóbulos rojos con el Método de Estimación de Áreas basado en el Procesamiento Digital de Imágenes, en menor tiempo que el conteo por el Método manual es posible realizar diagnósticos más rápidos en caso de emergencias. En este caso solo es suficiente captar la imagen con un aumento de 40X de la muestra en la cámara de Neubauer. Luego la imagen es procesada tal como se expone en el Capítulo 4, y finalmente una vez obtenido el conteo de las cuadriculas.

Calcular el número de glóbulos rojos por unidad de volumen, como se observa en las Figuras 113 y 114.

$$X = \frac{10\ a\ n}{fd}$$

a: Número total de glóbulos rojos en las cinco cuadriculas.

n: Número de cuadricula en este caso 5

fd: Factor de dilución en este caso 1/200.

X: $Glóbulos\ rojos/mm^3$

Nota: cada cuadrícula mide 1/5 mm de lado y profundidad 0.1mm, por lo tanto tiene un volumen de 1/50mm3 y contiene glóbulos rojos con una dilución 1/200, por lo tanto se multiplica el número de glóbulos rojos por cuadricula por 200. Y para saber por el total de glóbulos, es decir, las 5 cuadriculas, el resultado anterior se tiene que multiplicar por 5.

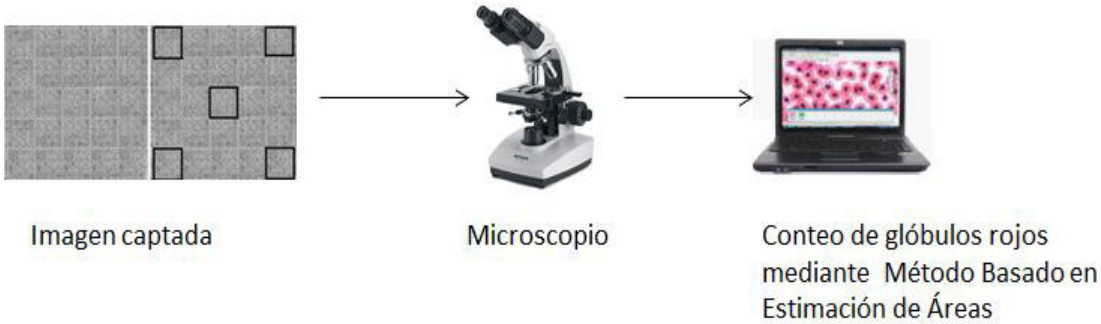


Figura 134. **Ilustración del proceso de conteo de glóbulos rojos mediante el Método Basado en Estimación de Áreas.**
Fuente. Elaboración propia

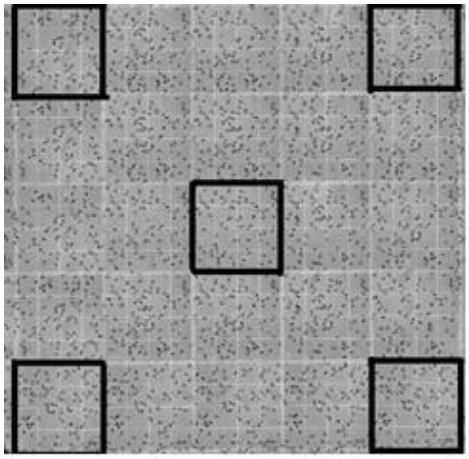


Imagen 1

CONTEO DE GLÓBULOS ROJOS EN LAS 5 CUADRICULAS

Cuadricula 1 = 90.000000
Cuadricula 3 = 90.000000
Cuadricula 13 = 89.000000
Cuadricula 21 = 100.000000
Cuadricula 25 = 100.000000

El total de glóbulos rojos = 469.000000
Factor de dilusión = 1/200
N° Glóbulos rojos/mm3 = 1876.000000

Imagen 2

Figura 135. **Cuadriculas de conteo de glóbulos rojos y el resultado del conteo**.
Fuente. Elaboración propia.

La imagen 1 ilustra las cuadriculas donde los glóbulos rojos son contadas y luego en la imagen 2 ilustra la impresión en pantalla del resultado del conteo.

Aspectos del diagnóstico del análisis de sangre por medio del conteo de glóbulos rojos son:

Los rangos normales del conteo de glóbulos rojos son:

- Hombre: de 4.7 a 6.1 millones de células por milímetro cúbico (células/mm3)
- Mujer: de 4.2 a 5.4 millones de células por milímetro cúbico (células/mm3)

La cantidad de glóbulos rojos altos se deben a:

- A mayor altitud
- Consumo de cigarrillo.
- Insuficiencia del lado derecho del corazón.
- Deshidratación.
- Tumor renal.

- Niveles bajos de oxígeno en sangre.
- Cicatrización y engrosamiento de los pulmones.
- Enfermedad de la médula ósea que causa que causa un aumento de los glóbulos rojos.
- Consumo del antihipertensivo Metildopa en forma comercial “Aldomet”.
- Consumo del antibiótico Gentamicina.

La cantidad de glóbulos rojos bajos se deben a:

- Anemia
- Sangrado
- Insuficiencia de la médula ósea (ejemplo, por radiación, toxinas o tumor)
- Deficiencia de una hormona llamada eritropoyetina (causada por enfermedad renal)
- Destrucción de glóbulos rojos (hemólisis) debido a transfusión, lesión vascular u otra causa
- Leucemia
- Desnutrición
- Cáncer de médula ósea llamado mieloma múltiple
- Poco hierro, cobre, folato, vitamina B12 o vitamina B6 en su dieta.
- Mucha agua en el organismo (sobrehidratación)
- Embarazo
- Consumo de quimioterapéuticos.
- Quinidina para arritmias y malaria.
- Consumo del antibiótico Cloranfenicol
- Hidantoina relajante muscular.

Asimismo, los algoritmos desarrollados para la presente investigación alternativos para el conteo de glóbulos rojos tales como el algoritmo basado en la Estimación de Áreas, el algoritmo basado en la transformada de Watershed y Transformada de Hough, constituyen bases para el desarrollo de otras aplicaciones dentro del campo de Procesamiento Digital de Imágenes específicamente el campo de visión por computadora.

6.2. Algoritmo Basado en la Estimación de Áreas

Este algoritmo desarrollado en la presente tesis, permite el conteo de objetos de la imagen superpuestos, con la condición de que dichos objetos tengan las mismas características, en este caso se empleó en el conteo de glóbulos rojos, pero en general se puede aplicar a objetos de otra naturaleza, como monedas, figuras geométricas, células, etc. En las Figuras 113 y 114 se puede observar su aplicación. Esta técnica se seleccionó para el método de conteo en la presente tesis, la cual se trató en detalle en el acápite 4.2.6.

6.3. Algoritmo de aplicación de la Transformada de Watershed

El algoritmo de la Transformada de Watershed, tratado en el acápite 4.3, constituye una buena herramienta para la segmentación de imágenes de los objetos superpuestos, porque se presenta la dificultad de delimitar un objeto de otro. Con esta técnica una vez segmentada la imagen es posible analizar objeto por objeto en la imagen 2 como indica la Figura 136.

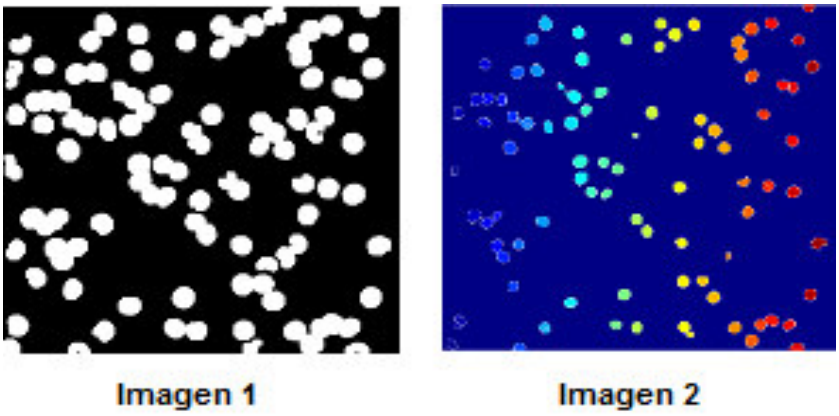


Figura 136. **Aplicación de la Transformada de Watershed**.
Fuente Elaboración propia.

En la imagen 1 de la Figura 136 se observa los objetos superpuestos de la imagen segmentada, y en la imagen2 se observa claramente la separación de los objetos superpuestos como efecto de la aplicación de la Transformada de Watershed.

6.4. Algoritmo de aplicación de la Transformada de Hough

El algoritmo de la Transformada de Hough, tratado en el acápite 4.4, se puede emplear para la detección de rectas y circunferencias; aplicarse en el conteo de círculos mediante el cálculo de la cantidad de centros. Es necesaria la detección de bordes de los objetos segmentados por umbralización para la detección mencionada como lo indica la Figura 137.

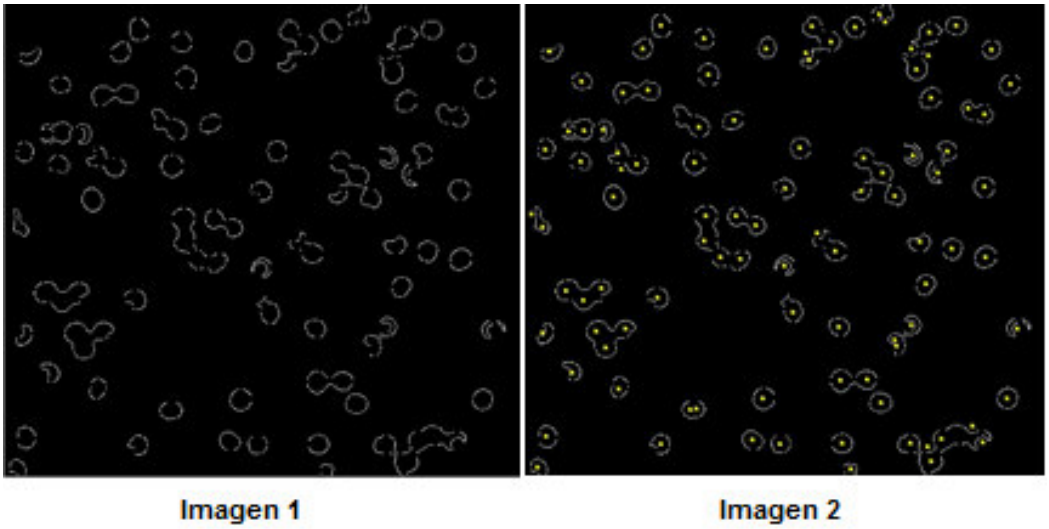


Figura 137. **Aplicación de la Transformada de Hough**.
Fuente. Elaboración propia

En la imagen 1 de la Figura 137 se observa los objetos de la imagen segmentados, luego de la detección de bordes, finalmente, se aplica la Transformada de Hough para detectar las circunferencias y por consecuencia sus centros cuyo número sirve para determinar la cantidad de objetos de interés en la imagen, esto se observa en la imagen 2.

6.5. Conteo de glóbulos blancos o leucocitos

Mediante el conteo diferenciado de glóbulos blancos con el Método de Máximos y Mínimos, basado en el Procesamiento Digital de Imágenes, se realiza en menor tiempo que el conteo por el Método manual, es posible realizar un diagnóstico más rápido en caso de emergencias, y se puede realizar el procedimiento en forma seguida sin tener problemas de precisión por cansancio debido que el conteo lo realiza un autómata, además de la ventaja del almacenamiento de la imagen de la muestra en una base datos, la que puede formar parte de la historia clínica del paciente. Ver Figuras 138 y 139.

Figura 138. ***Ilustración del proceso de conteo de glóbulos blancos mediante el Método Máximos y Mínimos.***
Fuente. Elaboración propia

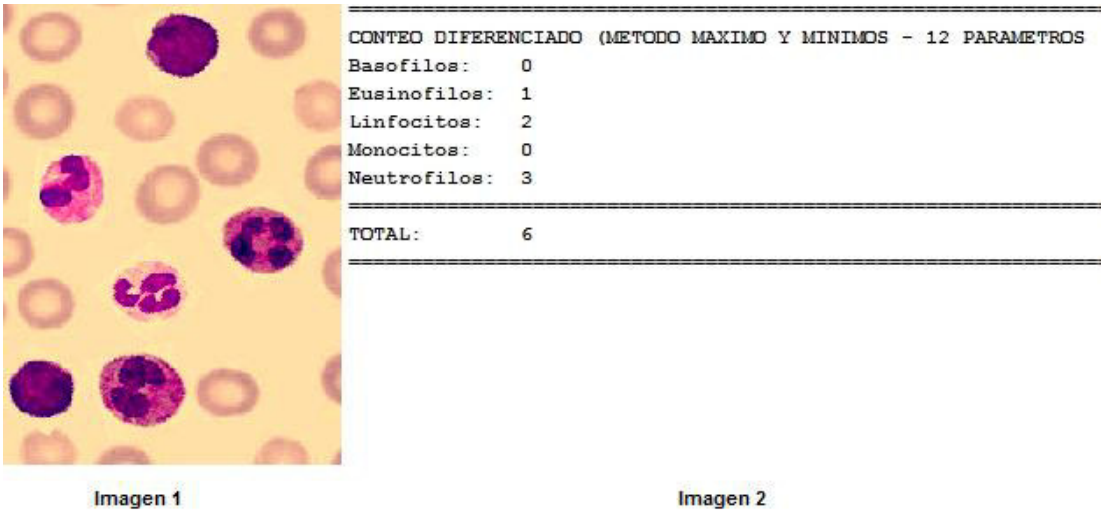


Figura 139. **Imagen captada de glóbulos blancos y el resultado del conteo**.
Fuente. Elaboración propia.
.

La imagen 1 de la Figura 138, la imagen de los glóbulos blancos, captada por la cámara del microscopio son contadas en forma diferenciada y luego en la imagen 2 se ilustra la impresión en pantalla del resultado.

6.6. Clasificación mediante el Método de Máximos y Mínimos

Es el método, tratado en el acápite 4.9.2, desarrollado en la presente tesis para la clasificación de objetos de una imagen por medio de sus características topográficas y aspectos estadísticos mediante la elección de máxima puntuación de los parámetros máximos y mínimos de cada uno de los objetos en forma integral, y si existe empate entre dos o más objetos, se realiza el desempate mediante un segundo nivel análisis más detallado de una característica interna, este proceso se ilustra en la Figura 104. En el caso de la presente tesis, es el núcleo del glóbulo blanco. Este método se aplica a otros tipos de aplicaciones donde se requiere la clasificación de objetos de una imagen.

6.7. Capacitación en la clasificación de glóbulos blancos

Al margen de demostrar que el algoritmo desarrollado permite realizar el conteo en menor tiempo que el método manual, esta aplicación puede ser útil en la capacitación para el conteo de glóbulos blancos de humanos en los diversos campos de estudio. El cual permitiría tener un instructor permanente para el adiestramiento en este tipo de capacidades.

6.8. Microscopia virtual

Mediante este campo las muestras de glóbulos rojos o blancos son analizadas a distancia a través de la imagen, captada y enviada a diferentes especialistas luego se realiza el análisis de la imagen con la ayuda de programa de Procesamiento Digital de Imágenes. Otra aplicación es el desarrollo de simuladores para microscopios virtuales los cuales permite contribuir a la capacitación, solo que no incluye métodos de Procesamiento Digital del Imágenes.

6.9. Aplicaciones para análisis citológicos

A partir de las aplicaciones desarrolladas se pueden realizar otras aplicaciones de análisis citológicos como el conteo de plaquetas o trombocitos, o también otras orientadas al diagnóstico de enfermedades como la malaria y otras similares. Es el caso de la identificación de espermatozoides de ratones para su clasificación teniendo como elemento diferenciable su mitocondria que forma parte de la cola de la célula, y que puedan ser identificados haciendo uso de algunos de los algoritmos desarrollados.

Otro impacto sería el desarrollo de equipos portátiles de microscopia para análisis de células sanguíneas haciendo uso de los algoritmos desarrollados, considerando que a nivel de programa no consumen muchos recursos de procesamiento, por lo que puede emplearse una Laptop, Tablet o Smartphone como elemento de procesamiento y de esta manera mejorar el servicio de análisis de sangre de manera más rápida y oportuna.

6.10. Impacto en el costo del servicio y la productividad.

El impacto del diseño de un algoritmo de conteo de células sanguíneas es su reducción de tiempo y costo del conteo. En el caso del costo tiene se refiere al empleo de menos personal para el proceso y al empleo de equipos menos costosos que si se realiza con otros equipos como los analizadores de sangre. En el caso de reducción de personal se trató en el acápite 4.3 de la presente investigación y el uso de equipos menos costosos se observa en el Cuadro 24, donde se compara los precios de analizadores de sangre y el precio de los equipos necesarios para realizar el conteo de células mediante el método de Procesamiento

Digital de Imágenes. El cual se descompone en el precio del Microscopio (M), el precio del software de conteo de células (S), y el precio de la cámara de video (PC).

Cuadro 41. **Comparación de equipos**

Equipos	Marca y Modelo	Costo
Analizador	Genius KT 6400	S/. 24,000
Analizador	Genius KT6300	S/. 22,000
Metodo PDI	M + S + PC	S/. 11,000

Fuente: Elaboración propia

En los Cuadros 45 y 46 del Anexo 3, se presentan los costos del software y el cálculo del Método PDI respectivamente, de manera detallada.

Finalmente, se presenta un impacto en el incremento de la productividad, al aumentar el número de servicios de conteo de células en una hora tal como se expone en el acápite 5.2.1, en el análisis de costo.

CONCLUSIONES

Luego de haber culminado el desarrollo planteado para la presente tesis basado en el Procesamiento Digital de Imágenes, y habiendo desarrollado la metodología, presentado el resultado, discusión e impactos se concluye lo siguiente:

- El algoritmo desarrollado usando técnicas de Procesamiento Digital de Imágenes, permite reducir el tiempo de conteo de células sanguíneas (glóbulos rojos y glóbulos blancos), con respecto al Método Manual. En el caso de los glóbulos rojos se puede verificar en el Cuadro 30 y corroborar en la prueba de hipótesis del acápite 5.2.1, paso 4. En el caso de los glóbulos blancos se puede verificar en el Cuadro 37 y corroborar en la prueba de hipótesis, del acápite 5.2.4, paso 4. De esta manera se prueba que es posible reducir el tiempo de conteo de células sanguíneas y automatizar este procedimiento, mediante el Procesamiento Digital de Imágenes.

- La tasa de error de conteo de glóbulos rojos es menor a 5% usando el algoritmo para el conteo de conteo de glóbulos rojos, tal como se verifica en el Cuadro 30, corrobora en la prueba de hipótesis del acápite 5.2.5, paso 4.

- La aplicación de Redes Neuronales Artificiales tipo Backpropagation es factible para la identificación de glóbulos blancos usando descriptores, pero para el propósito de conteo, no es recomendable dado el tiempo de procesamiento

que se requiere y el mayor número de falsos positivos que presenta, frente al conteo por el Método de Máximos y Mínimos.

- Se desarrolló un algoritmo para el conteo de células sanguíneas tales como glóbulos rojos y glóbulos blancos. El algoritmo desarrollado se muestra en la Figura 109. El cual presenta un procedimiento de conteo de glóbulos rojos y otro para el conteo diferenciado de glóbulos blancos.

- El algoritmo desarrollado de conteo de glóbulos rojos Basado en la Estimación de Áreas de los objetos similares de una imagen, constituye una técnica nueva para aplicaciones como el conteo de células sanguíneas.

- Se ha efectuado una aplicación de la Transformada de Watershed para la segmentación de objetos similares superpuestos en una imagen en este caso fue para células sanguíneas mediante un algoritmo.

- Se ha efectuado aplicaciones de la Transformada de Hough para la detección de rectas o circunferencias en una imagen para el conteo de glóbulos rojos, y también para la detección de lóbulos como en el caso de los núcleos de los glóbulos blancos, mediante los algoritmos respectivos en cada caso. Siendo muy útil para aplicaciones de identificación y conteo de los objetos mencionados.

- El algoritmo desarrollado de conteo de glóbulos blancos mediante el Método de Máximos y Mínimos es un nuevo enfoque para la identificación y objetos de una imagen alternativo para aplicación como el conteo e identificación de células sanguíneas.

- En general en el campo de procesamiento digital de imágenes las técnicas y conocimientos se adaptan de acuerdo a la aplicación en este caso se desarrolló un procedimiento para el conteo de glóbulos rojos y otro para el conteo e identificación de glóbulos blancos.

- El costo del conteo de células sanguíneas es menor, debido a que se diseñó un algoritmo de conteo de células sanguíneas que permite reducir el tiempo de conteo de células sanguíneas y por tanto brindar mayor cantidad de servicio por unidad de tiempo tal como se expone en el acápite 5.2.1 aumentando la

productividad y emplear un equipamiento de menor costo comparado con analizadores de sangre tal como se expone en el acápite 6.10.

RECOMENDACIONES

A partir de la presente tesis, se proponen algunas recomendaciones, como resultado del desarrollo y experiencias adquiridas que conduzcan a continuar con la investigación y plantear nuevos desarrollos, las siguientes:

- Desarrollar una aplicación para el conteo de plaquetas o trombocitos, para complementar, los desarrollos alcanzados.

- Diseñar un equipo portátil de microscopia que permita realizar el análisis de hemograma mediante el procesamiento digital de imágenes, haciendo uso de dispositivos móviles como laptops, tabletas o celulares. Para hacer del servicio de análisis de sangre más oportuno y menor costo.

- Aplicar el algoritmo de Máximos y Mínimos para el análisis más detallado de glóbulos rojos con la finalidad de detectar células falciformes y otras alteraciones producidas por enfermedades como la Malaria y otras similares.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aguilera, M. (2012). *Reconocimiento Biométrico Basado en imágenes de huellas palmares.* TESIS, Madrid.

Ajoy, A. (2010). *Image Processing, Principles and Applications.* Wiley Interscience.

Alayon, S. (2008). *Segmentaciçon automática de núcleos solapados en imágenes de citologías.* Tenerife, España: Universidad de la Laguna.

Alomari, Y., Abdullah, S., Azma, R., & Omar, K. (2015). *Automatic Detecttion and Quantification of WBCs and RBCs Using Iterative Structered Circle Detection Algorithm.* Malaysia: National of Malaysia University.

Alvarez, P. (marzo de 2013). *Prototipo de sistema piloto para control de acceso basado en reconocimiento de rostros.* Nueva Granada.

Armentano, R., D'attellis, C., Rrisk, M., & Payer, E. (2004). *Procesamiento de señales e imágenes teoría y aplicaciones.* Buenos Aires: Facultad Regional de Buenos Aires, Universidad Tecnológica Nacional .

Barchiesi, J. (2008). *Introducción al procesamiento digital de señales.* Valparaiso: Ediciones Universitarias de Vaparaiso, Pontificia Universidad Catolica de Vaparaiso.

Beck, N. (2010). Diagnostic Hematolgy. *Base de Datos MedLine*.

Biggs & Macmillan . (1948). The Errors of Some Haematological Methods as They Are Used in a Routine Laboratory. *Journal of Clinical Pathology*.

Blaikie, N. (1991). A critique of the use of triangulation in social research. *Quality and Quantity*, N. 25. Pp. 115-136.

Blanchet, G. (2006). *Dgital signal processing and image processing using Matlab.* Newport Beach, California, USA: ISTE.

Borini, B., Minetto, R., & Leite, N. (2011). *White Blood Cell Segmentation Using Morphological Operator and Scale Space Analysis.* Campinas, Brasil: Institute of Computing, State University of Campinas.

Brio, M. (2007). *REdes Neuronales y Sistemas Borrosos.* Madrid: Ra-ma.

Briones, G. (1996). *Metodología de la Investigación en las Ciencias Sociales.* Bogota, Colombia: Instituto Colombiano para el Fomento de la educación Superior.

Casanova, A., & Antonio, J. (20 de agosto de 2015). *PSICOLOGÍA DE LA PERCEPCIÓN VISUAL.* Obtenido de http://www.ub.edu/pa1/node/realidad

Castleman, W., Quiang, F., & Merchant, R. (2008). Microscope Image Processing. *Base de Datos Elsevier.*

CITEC. (23 de agosto de 2010). *Presaberes e importancia de la investigación*. Obtenido de http://datateca.unad.edu.co/contenidos/100104/presaberes_importancia_invest.pdf

Cliffs, E. (1969). *Introducction to Value Theory.* Washington DC: Prentice Hall.

COMIE. (25 de septiembre de 2009). *La orientación Epistemológica de la investigación educativa*. Obtenido de http://www.comie.org.mx/congreso/memoriaelectronica/v10/pdf/carteles/1613-F.pdf

CONALEP 2010. (27 de agosto de 2015). *Razonamiento deductivo*. Obtenido de http://conalep-tultitlan.no-ip.org/recursos-didacticos/resolucion/razonamiento/razonamiento_deductivo.html

Drozdowicz, B., Bernasconi, G., Reyes, M., Saba, F., & Simón, G. (2005). Segmentación semiautomática de imágenes de resonancia magnética, basada en redes neuronales artificiales. *REDALYC.*

Escalante, P. (2006). *Transcriptor de lenguaje de señas.* Puebla, Mexico: Universidad de las Americas de Puebla.

Fischler, M., & Firschein, O. (2014). *Computer Vision: Issues, Problems, Principles, and Paradigms.* Los Altos, California, USA: Morgan Kauffman Publishers.

Flórez, L., & Fernández, F. (2008). *Redes neuronales artificiales: fundamentos teóricos y aplicaciones prácticas.* La Coruña, España: Netbiblo.

Garcia, I. (2008). *Visión artificial y procesamiento digital de señales usando Matlab.* Ibarra, Ecuador.

Gómez, D., Condado, J., Adriazola, Y., & Solano, O. (2005). *Introducción a la inferencia estadística.* Lima: Fondo Editorial de la UNMSM.

Gonzales de Buitrago, J. (2005). *Técnicas y métodos de laboratorio clinico.* Barcelona, España: Masson S.A.

Gonzalez, R. (2009). *Digital Image Processing Using Matlab.* Gatesmark Publishing; 2nd edition.

Hernández, R., Fernández, C., & Baptista, P. (2014). *Metologia de la Investigación.* Mexico: Mc Graw Hill.

Irisarri, M. (2012). *apuntes de la teoría del conocimiento y Epistemología*. Obtenido de http://es.slideshare.net/adolfomontiel/teora-del-conocimiento-y-epistemologa

Jick, T. (1979). *Mixing Qualitative and Quantitative Methods: Triangulation in Action* . Nueva York: Sage Publications.

Karris, S. (2006). *Introduction to Simulink.* United States of America: Orchard Publications.

Kluwer, W. (2008). *Incredible Easy.* Base de datos Medline.

Leishman, S. (2009). *Shape-Free Statistical Information in Optical Character Recognition.* Toronto, Canada: University of Toronto.

Lewis, S Bain, B. (2008). *Hematología práctica.* Barcelona, España: Elsevier.

Llorens, F. (febrero de 2011). *Análisis de David Hume del Principio de Causalidad*. Obtenido de https://francescllorens.files.wordpress.com/2011/02/el-principio-de-causalidad.pdf

Lluis, J., Corrons, V., & Aguilar, J. (2006). *Manual de Técnicas de Laboratorio en Hematología.* Barcelona, España: Masson S.A.

López, E., & Altamirano, L. (2009). Segmentación Markoviana Usando Modelos de Textura. *INAOE.*

Márquez, E. (abril de 2013). *La perspectiva Epistemológica objetivista y la hegemonia de la investigaci{on cuantitativa*. Obtenido de http://es.slideshare.net/adolfomontiel/teora-del-conocimiento-y-epistemologa

MINSA. (2004). *Manual de procedimeintos de laboratorio en técnicas básicas de hematología.* Lima, Perú: Institutto Nacionalo de Salud - Ministerio de Salud.

Morales, R. (2012). *Procesamiento y analisis digital de imágenes.* México: Alfaomega.

Mosby's. (2006). *Diagnostic and Laboratory test reference.* España: Elsevier.

Ochoa, M. (2006). *Clasificación de leucocitos utilizando visión por computadora.* Tlaxcala, Mexico: Universidad Autonoma de Tlaxcala.

Ochoa, S. (10 de noviembre de 2015). *Caracteristicas de una red neuronal artificial*. Obtenido de http://fluidos.eia.edu.co/hidraulica/articuloses/flujoentuberias/neuronal/neuronal_archivos/page0002.htm

Opperman, M. (2000). Triangulation - A Methodological discussion. *International Journal of Tourism Research.*, Vol. 2. N. 2. Pp. 141-146.

Ortiz, F. (2002). *Procesamiento morfológico de imágenes en color, aplicacion a la reconstrucción geodésica (Tesis doctoral).* Alicante: Universidad de Alicante.

Pajares, G. (2006). *Aplicaciones inustriales de la visión por computador.* Madrid: Departamento de Arquitectura de Computadores y Automatica de la Univerisidad Complutense de Madrid.

Palella, S., & Pestana, M. (2012). *Metodolgia de la Investigación Cuantitativa.* Caracas, Venezuela: Fondo Editorial de la Universidad Pedagógica Experimental Libertadores.

Palma, J., & Morales, R. (2008). *Inteligencia artificial y sistemas inteligentes.* España: Mc Graw Hill/Interamericana.

Petrou, M., & Petrou, C. (2010). *Image processing. The Funadmentals.* Wiley.

Pinzon, R. (2004). *Desarrollo de un sistema de analisis automático de imágenes de extendido sanguíneos* . Recuperado el 06 de junio de 2013, de http://cmp.felk.cvut.cz/~garcia/art/JDG-CASEIBII.pdf

Platero, C. (2002). *Procesamiento de imagenes biomédicas para el estudio de la influencia de la radiacion electromagnética GSM sobre células madre neuronales.* Recuperado el 25 de marzo de 2014, de http://www.elai.upm.es/spain/Publicaciones /pub02/ProcBioVA_GSM_lalaguna02.pdf

Putzu, L., & Di Ruberto, C. (2013). *White Blood Cells Identification and Classification from Leukemia Blood Image.* Cagliary, Italy: Departament of Matematics and Computer Science, University of Cagliari.

Ramesh, N., Dangott, B., Salama, M., & Tasdizen, T. (2012). Isolation and two-step classification of normal White blood cells in peripheral blood smears. *Journal of Pathology Informatics*.

Ramirez, c., & Aristizabal, D. (2006). *Conceptos Básicos del Procesamiento Digital de Imagenes Usando OrquideaJAI Calculadora Digital de Imágenes.* Medellin: Universidad Nacional de Colombia.

Rodriguez, R., & Sossa, J. (2012). *Procesamiento y Análisis Digital de Imágenes.* Mexico: Alfaomega.

Ruiz, G. (2009). *Fundamentos de Hematologia. Centro de Hematolgía y Medicina Interna de Puebla.* Puebla, Mexico: Panamericana.

Ruiz, M., & Ildefonso, M. (2012). *Validación y confiabilidad*. Obtenido de http://www.eumed.net/tesis-doctorales/2012/mirm/validacion_confiabilidad.html

Sánchez, H., Edgar, S., Silvio, C., & José, P. (22 de julio de 2015). *Concepto de Epistemología.* Recuperado el 20 de agosto de 2015, de Aula Virtual UPES: http://aulaweb2.upes.edu.sv/claroline2014/claroline/work/user_work.php?cmd=exDownload&authId=583&assigId=1&workId=14&cidReset=true&cidReq=MYT000

Semmlow, J. (2004). *Biosignal and Biomedical Image, Processing Matlab-Based Applications.* New Jersey, U.S.A: Marcel Dekker.

Shankar, S., & Sastry, M. (2010). *Segmentation of natural images by texture and boundary compression.* Malibu, California, USA: HRL Laboratories, LLC.

Sonar, S., & Bhagat, K. (2015). *An Efficient Technique for White Blood Cells Nuclei Automatic Segmentation.* Maharashtra, India: Deparment of Electronic and Telecommunication Engineering, J.T Mahajan College of Engineering.

Su, M., Cheng, C., & Wang, P. (2014). *A Neuronal Network Based Approach to White Blood Cell.* Jhongli, Taiwan: Department of Computer Science & Information Engineering, National Central University.

Trinh, H. (2010). A machine learning approach to recovery of scene geometry. *Computer Vision and Pattern Recognition*.

Valenti, M. (2011). *The DSP Workbook A companion to EE 463.* Spring, U.S.A: West Virginia University.

Velez, H., Rojas, W., & Restrepo, J. (2009). *Fundamentos de Medicina.* Medellin, Colombia: Corporación de investigaciones biológicas.

Vilet, J. (2005). *Apuntes de procesamiento digital de imágenes.* San Luis de Potosi, Mexico: Facultad de Ingeniería UASLP.

Westland, S. (2004). *Computational Colour Science using MATLAB.* West Sussex, England: John Wiley & Sons Ltd.

Wlliam, J. (2006). *Procesamiento de imágenes a coolor utilizando morfología matemática. Facultad de Ciencias.* Recuperado el 26 de agosto de 2014, de http://www.iiisci.org/journal/CV$/risci/pdfs/C382LR.pdf

Wu, B., Nevatia, R., & Li, Y. (2008). *Segementation of multiple, partially occluded objects by grouping, merging, assigning part detection responses.* Los Angeles: University of southern of California.

ANEXO 1

En esta sección se presenta los códigos de programa en Matlab empleados en los diferentes procedimientos del desarrollo de la presente tesis.

A.1.1. Código de programa para obtener las imágenes de las cuadrículas

```
%PROGRAMA: OBTIENE CUADRICULAS RECORTADAS DE LA IMAGEN CAPTADA POR LA CAMARA PARA EL CONTEO DE
%          GLÓBULOS ROJOS
%Autor:    Mg. Ing. Rafael Bustamante Alvarez
%==============================================================
clc;
Clear;
figure(1)
imagen=imread('redgrid_2.jpg'); %  Lectura de imagen capturada por la camara
umbral=graythresh(imagen); %Extrayendo el nivel de umbral por metodo de OTSU
imagen_bw=im2bw(imagen,0.64);
% imagen_g=rgb2gray(imagen);
imshow(imagen);
gril11
gril22
bgr3=or(bgr1,bgr2);  % Operación de suma lógica entre imágenes bgr1 y bgr2
bgr4=~bgr3; % guardando el negativo  de bgr3
figure(6)
imshow(bgr4); % muestra imagen bgr4 de las cuadriculas
bgr5=bwareaopen(bgr4,20000); %Eliminan todos los objetos de bgr4 de área menor a 20000
figure(7)
imshow(bgr5);
[L Ne]=bwlabel(bgr5,8);% El parámetro 8 indica el n° de pixeles conectados
grilla=regionprops(L,'all');
bgp=round(grilla(1).Extrema); %redondea los valores de las coordenadas de corte
% DETERMINANDO LOS VERTICES DE CADA UNA DE LAS 5 IMAGENES (de lacuadriculas)
%Haciendo uso de la propiedad 'extrema' que permite determinar los 8 puntos
%extremos de una imagen, a partir se determinan los vertices
cd1=1; % Valor del numero de cuadricula 1 para ser recortada
cd2=5; % Valor del numero de cuadricula 2 para ser recortada
cd3=13; % Valor del numero de cuadricula 3 para ser recortada
cd4=21; % Valor del numero de cuadricula 4 para ser recortada
cd5=25; % Valor del numero de cuadricula 5 para ser recortada
```

Código de programa 30. **Obtención de las imágenes de cuadrículas de la imagen captada por la cámara**
Fuente. Elaboración propia

A.1.2. Código de programa del conteo de GR basado en la estimación de áreas

```
%PROGRAMA: CONTEO DE GR EN 5 CUADRICULAS BASADA EN ESTIMACION DE AREAS
%Autor:    Mg. Ing. Rafael Bustamante Alvarez
%=====================================================
clear;
clc;
figure(1)
imagen=imread('redgrid_2.jpg'); %
imshow(imagen);
umbral=graythresh(imagen); %Extrayendo el nivel de umbral por metodo de OTSU
imagen_bw=im2bw(imagen,0.64); % segmenta imagen con un umbral de 0.64
% imagen_g=rgb2gray(imagen);
gril11; % determina la imagen con líneas horizontales
gril22; % determina la imagen con líneas verticales
bgr3=or(bgr1,bgr2);
bgr4=~bgr3; % guardando el negativo  de bgr3
figure(6)
imshow(bgr4);
bgr5=bwareaopen(bgr4,20000); %Eliminan todos los objetos de bgr4 de área menor a 20000
figure(7)
imshow(bgr5);
[L Ne]=bwlabel(bgr5,8);% El parametro 8 indica el n° de pixeles conectados
grilla=regionprops(L,'all');
bgp=round(grilla(1).Extrema); %redondea los valores de las coordenadas de corte
% DETERMINANDO LOS VERTICES DE CADA UNA DE LAS 5 IMAGENES (de la cuadriculas)
%Haciendo uso de la propiedad 'extrema' que permite determinar los 8 puntos
%extremos de una imagen, a partir se determinan los vértices
cd1=1; % Valor del número de cuadricula 1 para ser recortada
cd2=3; % Valor del número de cuadricula 3 para ser recortada
cd3=13; % Valor del número de cuadricula 13 para ser recortada
cd4=21; % Valor del número de cuadricula 21 para ser recortada
cd5=25; % Valor del número de cuadricula 25 para ser recortada
for i=1:Ne
%DETERMINANDO LOS VALORES PARA EL RECORTE DE LAS 5 IMÁGENES
%Y LUEGO REALIZANDO LOS RECORTES PARA EL CONTEO DE CELULAS CON 'contadil'
for i=1:Ne
figure(8)
subplot(2,3,1)
imshow(bwc1); % mostrando la imagen de la cuadricula 1
title(['Muestra ',int2str(cd1),' N° de células: ',int2str(muestra1)],'Color','b') ;
subplot(2,3,2)
imshow(bwc5); % mostrando la imagen de la cuadricula 5
title(['Muestra ',int2str(cd2),' N° de células: ',int2str(muestra5)],'Color','b') ;
subplot(2,3,3)
imshow(bwc13); % mostrando la imagen de la cuadricula 13
title(['Muestra ',int2str(cd3),' N° de células: ',int2str(muestra13)],'Color','b') ;
subplot(2,3,4)
imshow(bwc21); % mostrando la imagen de la cuadricula 21
title(['Muestra ',int2str(cd4),' N° de celulas: ',int2str(muestra21)],'Color','b') ;
subplot(2,3,5)
imshow(bwc25); % mostrando la imagen de la cuadricula 25
title(['Muestra ', int2str(cd5),' N° de celulas: ',num2str(muestra25)],'Color','b') ;
save('globulos.mat','bwc1','bwc5','bwc13','bwc21','bwc25','-mat');
;%=========================================================
% Cálculo final del número de G.R por unidad de volumen.
suma_gr=muestra1+muestra5+muestra13+muestra21+muestra25;
fd=1/200;
x= (suma_gr*50)/fd;
fprintf('=====================================');
fprintf('\nCONTEO DE GLÓBULOS ROJOS EN LAS 5 CUADRICULAS');
fprintf('\n=====================================');
fprintf('\n Cuadricula %i =  %f',cd1,muestra1);
fprintf('\n Cuadrícula %i =  %f',cd2,muestra5);
fprintf('\n Cuadricula %i =  %f',cd3,muestra13);
fprintf('\n Cuadricula %i =  %f',cd4,muestra21);
fprintf('\n Cuadricula %i =  %f',cd5,muestra25);
fprintf('\n\n=========================================');
fprintf('\n El total de glóbulos rojos =  %f',suma_gr);
fprintf('\n Factor de dilusión =  1/200');
fprintf('\n N° Glóbulos rojos/mm3 = %f',x );
fprintf('\n =====================================\n');
```

Código de programa 31. **Programa que realiza el conteo de GR basado en estimación de áreas**
Fuente. Elaboración propia

A.1.3. Código de programa del conteo de GR basado en la Transformada de Watershed

```
%PROGRAMA: CONTEO DE GR EN 5 CUADRICULAS BASADA EN LA TRANSFOPRMADA DE WATERSHED
%Autor:    Mg. Ing. Rafael Bustamante Alvarez
%==============================================================
clear;
clc;
figure(1)
imagen=imread('redgrid_2.jpg'); %
imshow(imagen);
umbral=graythresh(imagen); %Extrayendo el nivel de umbral por metodo de OTSU
imagen_bw=im2bw(imagen,0.64); % segmenta imagen con un umbral de 0.64
% imagen_g=rgb2gray(imagen);
gril11; % determina la imagen con líneas horizontales
gril22; % determina la imagen con líneas verticales
bgr3=or(bgr1,bgr2);
bgr4=~bgr3; % guardando el negativo  de bgr3
figure(6)
imshow(bgr4);
bgr5=bwareaopen(bgr4,20000); %Eliminan todos los objetos de bgr4 de área menor a 20000
figure(7)
imshow(bgr5);
[L Ne]=bwlabel(bgr5,8);% El parámetro 8 indica el n° de pixeles conectados
grilla=regionprops(L,'all');
bgp=round(grilla(1).Extrema); %redondea los valores de las coordenadas de corte
% DETERMINANDO LOS VERTICES DE CADA UNA DE LAS 5 IMAGENES (de la cuadriculas)
%Haciendo uso de la propiedad 'extrema' que permite determinar los 8 puntos
%extremos de una imagen, a partir se determinan los vértices
cd1=1; % Valor del número de cuadricula 1 para ser recortada
cd2=3; % Valor del número de cuadricula 3 para ser recortada
cd3=13; % Valor del número de cuadricula 13 para ser recortada
cd4=21; % Valor del número de cuadricula 21 para ser recortada
cd5=25; % Valor del número de cuadricula 25 para ser recortada
for i=1:Ne
%DETERMINANDO LOS VALORES PARA EL RECORTE DE LAS 5 IMÁGENES
%Y LUEGO REALIZANDO LOS RECORTES PARA EL CONTEO DE CELULAS CON 'contadil_tw'
for i=1:Ne
figure(8)
subplot(2,3,1)
imshow(bwc1); % mostrando la imagen de la cuadricula 1
title(['Muestra ',int2str(cd1),' N° de células: ',int2str(muestra1)],'Color','b') ;
subplot(2,3,2)
imshow(bwc5); % mostrando la imagen de la cuadricula 5
title(['Muestra ',int2str(cd2),' N° de células: ',int2str(muestra5)],'Color','b') ;
subplot(2,3,3)
imshow(bwc13); % mostrando la imagen de la cuadricula 13
title(['Muestra ',int2str(cd3),' N° de células: ',int2str(muestra13)],'Color','b') ;
subplot(2,3,4)
imshow(bwc21); % mostrando la imagen de la cuadricula 21
title(['Muestra ',int2str(cd4),' N° de celulas: ',int2str(muestra21)],'Color','b') ;
subplot(2,3,5)
imshow(bwc25); % mostrando la imagen de la cuadricula 25
title(['Muestra ', int2str(cd5),' N° de celulas: ',num2str(muestra25)],'Color','b') ;
save('globulos.mat','bwc1','bwc5','bwc13','bwc21','bwc25','-mat');
;%=====================================================================
% Cálculo final del número de G.R por unidad de volumen.
suma_gr=muestra1+muestra5+muestra13+muestra21+muestra25;
fd=1/200;
x= (suma_gr*50)/fd;
fprintf('==========================================');
fprintf('\nCONTEO DE GLÓBULOS ROJOS EN LAS 5 CUADRICULAS');
fprintf('\n==========================================');
fprintf('\n Cuadricula %i =  %f',cd1,muestra1);
fprintf('\n Cuadrícula %i =  %f',cd2,muestra5);
fprintf('\n Cuadricula %i =  %f',cd3,muestra13);
fprintf('\n Cuadricula %i =  %f',cd4,muestra21);
fprintf('\n Cuadricula %i =  %f',cd5,muestra25);
fprintf('\n\n==========================================');
fprintf('\n El total de glóbulos rojos =  %f',suma_gr);
fprintf('\n Factor de dilusión =  1/200');
fprintf('\n N° Glóbulos rojos/mm3 = %f',x );
fprintf('\n ==========================================\n');
```

Código de programa 32. **Programa que realiza el conteo de GR basado en la Transformada de Watershed**
Fuente. Elaboración propia

A.1.4. Código de programa del conteo de GR basado en la Transformada de Hough

```
%PROGRAMA: CONTEO DE GR EN 5 CUADRICULAS BASADA EN LA TRANSFOPRMADA DE HOUGH
%Autor:    Mg. Ing. Rafael Bustamante Alvarez
%=====================================================
clear;
clc;
figure(1)
imagen=imread('redgrid_2.jpg'); %
imshow(imagen);
umbral=graythresh(imagen); %Extrayendo el nivel de umbral por metodo de OTSU
imagen_bw=im2bw(imagen,0.64); % segmenta imagen con un umbral de 0.64
% imagen_g=rgb2gray(imagen);
gril11; % determina la imagen con líneas horizontales
gril22; % determina la imagen con líneas verticales
bgr3=or(bgr1,bgr2);
bgr4=~bgr3; % guardando el negativo  de bgr3
figure(6)
imshow(bgr4);
bgr5=bwareaopen(bgr4,20000); %Eliminan todos los objetos de bgr4 de área menor a 20000
figure(7)
imshow(bgr5);
[L Ne]=bwlabel(bgr5,8);% El parametro 8 indica el n° de pixeles conectados
grilla=regionprops(L,'all');
bgp=round(grilla(1).Extrema); %redondea los valores de las coordenadas de corte
% DETERMINANDO LOS VERTICES DE CADA UNA DE LAS 5 IMAGENES (de la cuadriculas)
%Haciendo uso de la propiedad 'extrema' que permite determinar los 8 puntos
%extremos de una imagen, a partir se determinan los vértices
cd1=1; % Valor del número de cuadricula 1 para ser recortada
cd2=3; % Valor del número de cuadricula 3 para ser recortada
cd3=13; % Valor del número de cuadricula 13 para ser recortada
cd4=21; % Valor del número de cuadricula 21 para ser recortada
cd5=25; % Valor del número de cuadricula 25 para ser recortada
for i=1:Ne
%DETERMINANDO LOS VALORES PARA EL RECORTE DE LAS 5 IMÁGENES
%Y LUEGO REALIZANDO LOS RECORTES PARA EL CONTEO DE CELULAS CON 'contadil_th'
for i=1:Ne
figure(8)
subplot(2,3,1)
imshow(bwc1); % mostrando la imagen de la cuadricula 1
title(['Muestra ',int2str(cd1),' N° de células: ',int2str(muestra1)],'Color','b') ;
subplot(2,3,2)
imshow(bwc5); % mostrando la imagen de la cuadricula 5
title(['Muestra ',int2str(cd2),' N° de células: ',int2str(muestra5)],'Color','b') ;
subplot(2,3,3)
imshow(bwc13); % mostrando la imagen de la cuadricula 13
title(['Muestra ',int2str(cd3),' N° de células: ',int2str(muestra13)],'Color','b') ;
subplot(2,3,4)
imshow(bwc21); % mostrando la imagen de la cuadricula 21
title(['Muestra ',int2str(cd4),' N° de celulas: ',int2str(muestra21)],'Color','b') ;
subplot(2,3,5)
imshow(bwc25); % mostrando la imagen de la cuadricula 25
title(['Muestra ', int2str(cd5),' N° de celulas: ',num2str(muestra25)],'Color','b') ;
save('globulos.mat','bwc1','bwc5','bwc13','bwc21','bwc25','-mat');
;%=================================================================
% Cálculo final del número de G.R por unidad de volumen.
suma_gr=muestra1+muestra5+muestra13+muestra21+muestra25;
fd=1/200;
x= (suma_gr*50)/fd;
fprintf('=====================================');
fprintf('\nCONTEO DE GLÓBULOS ROJOS EN LAS 5 CUADRICULAS');
fprintf('\n=========================================');
fprintf('\n Cuadricula %i =  %f',cd1,muestra1);
fprintf('\n Cuadricula %i =  %f',cd2,muestra5);
fprintf('\n Cuadricula %i =  %f',cd3,muestra13);
fprintf('\n Cuadricula %i =  %f',cd4,muestra21);
fprintf('\n Cuadricula %i =  %f',cd5,muestra25);
fprintf('\n\n=====================================');
fprintf('\n El total de glóbulos rojos =  %f',suma_gr);
fprintf('\n Factor de dilusión =  1/200');
fprintf('\n N° Glóbulos rojos/mm3 = %f',x );
fprintf('\n ====================================\n');
```

Código de programa 33. **Programa que realiza el conteo de GR basado en la Transformada de Hough**
Fuente. Elaboración propia

A.1.5. Código de programa del conteo de GB basado en Redes Neuronales Artificiales

```
%PROGRAMA: CONTEO DIFERENCIADO MEDIANTE REDES NEURONALES - 12 PARAMETROS
%Autor:    Mg. Ing. Rafael Bustamante Alvarez
%==========================================================
%Donde matriz1 es el patrón y matriz2 contiene los parámetros de
%de las células a ser comparadas con el patrón.
%==========================================================
tic
clc; clear all
load parcel;% Se carga matriz1 que viene de blancos7.m en matriz1(12 x 50) están
p=matriz1;  % cargados los parámetros adecuadamente ordenadas y repetidas
            % para la capa de entrada de la RNA
IM=imread('micro5.jpg');
matriz2=imparblanco(IM); % matriz2 es de (12 x nºde células)
                         % Se genera en blancos5_h.m
[mm,ncel]=size(matriz2);
y=zeros(5,ncel); % Matriz de salida
for n=1:ncel
x=matriz2(:,n);  % Matriz de entrada de parámetros de la cel. Nº n de la imagen
                 % de las células

% FORMATO DE SALIDA DE LA RED NEURONAL
t1=[0.9999;0.9999;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.9999
;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.
0001;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001];
t2=[0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.9999;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001
;0.9999;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.0001;0.0001;0.
0001;0.0001;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001];
t3=[0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.9999;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001
;0.0001;0.0001;0.9999;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.0001;0.
0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.0001;0.0001];
t4=[0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.9999;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001
;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.
0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.0001];
t5=[0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.9999;0.9999;0.0001;0.0001
;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.
9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999;0.0001;0.0001;0.0001;0.0001;0.9999];
t=[t1 t2 t3 t4 t5];
net=newff(minmax(p),[50,5],{'tansig','logsig'},'trainlm');
% net = feedforwardnet(50);
% net= perceptron;
net.trainparam.show=50;
net.trainparam.lr=0.05;
net.trainparam.max_fail=5;
net.trainparam.mem_reduc=1;
% net.efficiency.memoryReduction=2;
net.trainparam.min_grad=1e-10;
net.trainparam.mu=0.001;
net.trainparam.mu_inc=100;
net.trainparam.time=inf;
net.trainparam.epochs=40;
net.trainparam.goal=1e-5;
net.trainParam.showWindow = false; %Para deshabilitar el "nntraintool" se pone "false"
t=t';
[net,tr]=train(net,p,t); %CAPA DE SALIDA ES una red de VARIAS salidas
a=sim(net,p);            % existe otra opción de capa de salida de una salida
y(:,n)=net(x);           %Reconocer la célula
end
y'
mayor1=y';
mayor2=zeros(size(mayor1));
for n=1:ncel
    nmay= max(mayor1(n,:));
    ind=find(abs(mayor1(n,:))==nmay);
    mayor2(n,ind)=1;
end
mayor2
t_cel=sum(mayor2);
fprintf('==================================================');
fprintf('\nCONTEO DIFERENCIADO (MÉTODO RNA - 12 PARAMETROS)');
fprintf('\nBasofilos:    %i',t_cel(1));
fprintf('\nEusinofilos:  %i',t_cel(2));
fprintf('\nLinfocitos:   %i',t_cel(3));
fprintf('\nMonocitos:    %i',t_cel(4));
fprintf('\nNeutrofilos:  %i',t_cel(5));
fprintf('\n==================================================');
fprintf('\nTOTAL:        %i',ncel);
fprintf('\n==================================================\n');
toc
%clear all
```

Código de programa 34. **Programa que realiza el conteo de GB basado en Redes Neuronales Artificiales**
Fuente. Elaboración propia

A.1.6. Código de programa del conteo de GB basado en el método de Máximos y Mínimos

```
%PROGRAMA: CONTEO DIFERENCIADO DE LEUCOCITOS POR MÉTODO DE MÁXIMOS Y MÍNIMOS
%Autor:    Mg. Ing. Rafael Bustamante Alvarez
%=========================================================
tic
clc; clear all
% format long
%nntwarn off
load parcel_mod_02_01; % Carga: Basofilo, Eusinofilo, Basofilo,Monocito y Nuetrofilo.
                       % que viene de blancos7_mod_02_01.m
% load imagparcel; %viene del archivo blancos5_h.m que tiene a matriz2
IM=imread('micro10.jpg');% Cargando la imagen de las celulas
matriz2=imparblanco(IM);% SE carga los valores en matriz2
%============================
%resultado=maxmincel(Basofilo,Eusinofilo,Linfocito, Monocito,Neutrofilo,matriz2)
ncel=1 ;% inicializando la variable numero de celula a evaluar
[m ncel]=size(matriz2); % m=12 (parámetros) ncel= numero de celulas

te=zeros(m,ncel*5);
s=1; % inicializa la variable de conteo de columnas de la matriz 'te'
for q=1:ncel …
%============================
% Generación de la matriz para identificación de células
 d=1;%  conteo de elementos del arregio de elementos de 'mycell'
 p=0;%  inicio conteo col. de inicio de c/grupo de 5 col de 'te'
 u=5;%  col. final de c/grupo de 5 col de 'te'
 mycell_01=cell([1,ncel]);%Se crea un arreglo de matrices (c/elemento es una matriz
                       % es decir hay ncel matrices
 while (u<=ncel*5)     % alamacenando c/5 col. de 'te' en c/elemento-matriz de 'mycell'
     mycell_01(d)={te(:,p+1:u)}; %tomando cada 5 col. de 'te' y almacenarlo en c/elem.
                                 %de mycell
     p=d*5; % col. de inicio
     d=d+1; % elemento de mycell que equivale al n° de cel. correspondiente
     u=d*5; % col. de fin
 end
 ce=zeros(ncel,5);% dimencionamiento de la matriz de identificacion 'ce'
w=1;
for k=1:ncel …
         celula=mycell_01{1,k} % Se extrae cada elemento de mycell de tamaño(12x5)
         maxim=sum(celula); % Se suma todos los elementos de c/col
         ce(k,:)=maxim%       Se almacena en 'ce'
%          maxcelula=max(maxim);
%          ce(w)=find(abs(maxim)==maxcelula);
%          w=w+1;
     end

% REALIZAR EL CONTEO TOTAL Y PRESENTAR EL RESULTADO
ce_1=zeros(size(ce)); %creando la matriz para el conteo
mycell_02=imblanco(IM); % Se almacena cada imagen de cel. en un arreglo
                        % de matrices
for k=1:ncel …
%ce_1 % para probar el valor de ce1
%CONTABILIZANDO TOTAL DE CELULAS
%
ce_2=sum(ce_1);
fprintf('==============================================================');
fprintf('\nCONTEO DIFERENCIADO (METODO MAXIMO Y MINIMOS - 12 PARAMETROS');
fprintf('\nBasofilos:    %i',ce_2(1));
fprintf('\nEusinofilos:  %i',ce_2(2));
fprintf('\nLinfocitos:   %i',ce_2(3));
fprintf('\nMonocitos:    %i',ce_2(4));
fprintf('\nNeutrofilos:  %i',ce_2(5));
fprintf('\n==============================================================');
fprintf('\nTOTAL:        %i',ncel);
fprintf('\n==============================================================\n');
toc
```

Código de programa 35. **Programa que realiza el conteo de GB basado en el método de Máximos y Mínimos**
Fuente. Elaboración propia

A.1.7. Código de programa de la Interfaz para el conteo de GR y GB

```
% PROGRAMA:  INTERFAZ GRÁFICA QUE INTEGRA EL CONTEO DE GR Y GB
% Autor:     Mg.Ing. Rafael Bustamante Alvarez
%==========================================================================
function varargout = contador(varargin)
gui_Singleton = 1;
gui_State = struct('gui_Name',       mfilename, ...
                   'gui_Singleton',  gui_Singleton, ...
                   'gui_OpeningFcn', @contador_OpeningFcn, ...
                   'gui_OutputFcn',  @contador_OutputFcn, ...
                   'gui_LayoutFcn',  [] , ...
                   'gui_Callback',   []);
if nargin && ischar(varargin{1})
    gui_State.gui_Callback = str2func(varargin{1});
end

if nargout
    [varargout{1:nargout}] = gui_mainfcn(gui_State, varargin{:});
else
    gui_mainfcn(gui_State, varargin{:});
end
% End initialization code - DO NOT EDIT
 % --- Executes just before contador is made visible.
function contador_OpeningFcn(hObject, eventdata, handles, varargin)
handles.output = hObject;
% Update handles structure
guidata(hObject, handles);
% --- Outputs from this function are returned to the command line.
function varargout = contador_OutputFcn(hObject, eventdata, handles)
varargout{1} = handles.output;
% --- Executes on button press in Cntar_globulos_rojos.
function Cntar_globulos_rojos_Callback(hObject, eventdata, handles)
close(contador);
contador1
% --- Executes on button press in Contar_globulos_blancos.
function Contar_globulos_blancos_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to Contar_globulos_blancos (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)
close(contador);
contador2
% --- Executes on button press in Salir.
function Salir_Callback(hObject, eventdata, handles)
close(contador);

% --- Executes during object creation, after setting all properties.
function titulo_CreateFcn(hObject, eventdata, handles)
%axes(handles.titulo);
```

Código de programa 36. **Programa que implementa la interfaz de conteo de GR y GB**
Fuente. Elaboración propia

A.1.8. Código de programa de la Interfaz para el conteo de GR.

```
% PROGRAMA:  INTERFAZ GRÁFICA QUE INTEGRA EL CONTEO DE GR
% Autor:     Mg.Ing. Rafael Bustamante Alvarez
%==================================================================
function varargout = contador1(varargin)
gui_Singleton = 1;
gui_State = struct('gui_Name',       mfilename, ...
                   'gui_Singleton',  gui_Singleton, ...
                   'gui_OpeningFcn', @contador1_OpeningFcn, ...
                   'gui_OutputFcn',  @contador1_OutputFcn, ...
                   'gui_LayoutFcn',  [] , ...
                   'gui_Callback',   []);
if nargin && ischar(varargin{1})
    gui_State.gui_Callback = str2func(varargin{1});
end
if nargout
    [varargout{1:nargout}] = gui_mainfcn(gui_State, varargin{:});
else
    gui_mainfcn(gui_State, varargin{:});
end
% --- Executes just before contador1 is made visible.
function contador1_OpeningFcn(hObject, eventdata, handles, varargin)
handles.output = hObject;
% Update handles structure
guidata(hObject, handles);
imag=imread('titulo_gr.png');
axes=(handles.Axis1);
imshow(imag);
% --- Outputs from this function are returned to the command line.
function varargout = contador1_OutputFcn(hObject, eventdata, handles)
varargout{1} = handles.output;
function edit1_Callback(hObject, eventdata, handles)
% --- Executes during object creation, after setting all properties.
function edit1_CreateFcn(hObject, eventdata, handles)
%       See ISPC and COMPUTER.
if ispc && isequal(get(hObject,'BackgroundColor'), get(0,'defaultUicontrolBackgroundColor'))
    set(hObject,'BackgroundColor','white');
end
% --- Executes on button press in pushbutton5.
function pushbutton5_Callback(hObject, eventdata, handles)
global k
    if  k==1
        image=get(handles.pushbutton4,'UserData');
    end
    if  k==2
        image=get(handles.pushbutton12,'UserData');
    end
Img=image;%IMPORTANTE: Siempre cargar imagen a variable
resultado=contagr_bea(Img);
resultado1=['Cuadricula 1 =  ',num2str(resultado(1))];
resultado2=['Cuadricula 5 =  ',num2str(resultado(2))];
resultado3=['Cuadricula 13 =  ',num2str(resultado(3))];
resultado4=['Cuadricula 21 =  ',num2str(resultado(4))];
resultado5=['Cuadricula 25 =  ',num2str(resultado(5))];
resultado6=[' El total de glóbulos rojos =  ',num2str(resultado(6))];
resultado7=[' Nº Glóbulos rojos/mm3 =  ',num2str(resultado(7))];
final={'==============================================';...
       'CONTEO DE GLÓBULOS ROJOS EN LAS 5 CUADRICULAS';...
       '==============================================';...
       resultado1;...
       resultado2;...
       resultado3;...
       resultado4;...
       resultado5;...
      ' ';...
      '==============================================';...
      resultado6;...
      'Factor de dilusión = 1/200';...
      resultado7;...
      '=============================================='};
set(handles.edit1,'String',final);
% --- Executes on button press in pushbutton6.
```

Continúa en la siguiente página…

```
function pushbutton6_Callback(hObject, eventdata, handles)
% --- Executes on button press in pushbutton7.
function pushbutton7_Callback(hObject, eventdata, handles)
 % --- Executes on button press in pushbutton8.
function pushbutton8_Callback(hObject, eventdata, handles)
close(contador1), contador;
% --- Executes on button press in pushbutton2.
 function pushbutton2_Callback(hObject, eventdata, handles)
global vid
% hObject    handle to pushbutton2 (see GCBO)
set(handles.pushbutton4,'enable','on');
set(handles.Axis1,'visible','on');
axes=(handles.Axis1);
vid=videoinput('winvideo');
vid.ReturnedColorSpace='grayscale';
vidRes=get(vid,'VideoResolution');
nBands=get(vid,'NumberOfBands');
himage=image(zeros(vidRes(2),vidRes(1),nBands));
preview(vid,himage);
% --- Executes on button press in pushbutton3.
function pushbutton3_Callback(hObject, eventdata, handles)
set(handles.Axis1,'visible','on');
closepreview;
axes=(handles.Axis1);
fondo=imread('titulo_gr.png');
imshow(fondo);
set(handles.pushbutton4,'enable','inactive');
% --- Executes on button press in pushbutton4.
function pushbutton4_Callback(hObject, eventdata, handles)
global vid
global k
% hObject    handle to pushbutton4 (see GCBO)
foto=getsnapshot(vid);
Img=imread('redgrid_2.jpg');
imshow(foto);
set(handles.pushbutton4,'UserData',foto);
k=1;
% --- Executes on button press in pushbutton12.
function pushbutton12_Callback(hObject, eventdata, handles)
global k
 [filename,direc]=uigetfile({'*.jpg; *.bmp'},'Abrir Archivo');
if isequal(filename,0)clc
else
    archi1=strcat(direc,filename);
    img2=imread(archi1);
    imshow(img2);
    set(handles.pushbutton12,'UserData',img2);
    k=2;
end
% --- Executes on button press in pushbutton14.
function pushbutton14_Callback(hObject, eventdata, handles)
[filename, pathname] = uiputfile({'*.jpg';'*.bmp'}, 'Save as');
if isequal(filename,0) || isequal(pathname,0)
else
    img3=get(handles.pushbutton4,'UserData');
    archi2=strcat(pathname,filename);
    imwrite(img3,archi2);
end
% --- Executes during object creation, after setting all properties.
function Axis1_CreateFcn(hObject, eventdata, handles)
imag=imread('titulo_gr.png');
axes=(handles.Axis1);
imshow(imag);
set(handles.Axis,'UserData');
% --- Executes on button press in pushbutton15.
function pushbutton15_Callback(hObject, eventdata, handles)
axes(handles.Axis1);
imshow('titulo_gr.png');
set(handles.edit1,'String','')
% --- Executes during object creation, after setting all properties.
```

Código de programa 37. **Programa que implementa la interfaz de conteo de GR y GB**
Fuente. Elaboración propia

A.1.9. Código de programa de la Interfaz para el conteo de GB.

```
% PROGRAMA:  INTERFAZ GRÁFICA QUE INTEGRA EL CONTEO DE GB
% Autor:     Mg.Ing. Rafael Bustamante Alvarez
%==================================================================
function varargout = contador2(varargin)
gui_Singleton = 1;
gui_State = struct('gui_Name',       mfilename, ...
                   'gui_Singleton',  gui_Singleton, ...
                   'gui_OpeningFcn', @contador2_OpeningFcn, ...
                   'gui_OutputFcn',  @contador2_OutputFcn, ...
                   'gui_LayoutFcn',  [] , ...
                   'gui_Callback',   []);
if nargin && ischar(varargin{1})
    gui_State.gui_Callback = str2func(varargin{1});
end
if nargout
    [varargout{1:nargout}] = gui_mainfcn(gui_State, varargin{:});
else
    gui_mainfcn(gui_State, varargin{:});
end
% --- Executes just before contador2 is made visible.
handles.output = hObject;
guidata(hObject, handles);
imag=imread('titulo_gb.png');
axes=(handles.Axis1);
imshow(imag);
% --- Outputs from this function are returned to the command line.
function varargout = contador2_OutputFcn(hObject, eventdata, handles)
varargout{1} = handles.output;
% --- Executes during object creation, after setting all properties.
function edit1_CreateFcn(hObject, eventdata, handles)
if ispc && isequal(get(hObject,'BackgroundColor'), get(0,'defaultUicontrolBackgroundColor'))
    set(hObject,'BackgroundColor','white');
end
% --- Executes on button press in pushbutton5.
function pushbutton5_Callback(hObject, eventdata, handles)
global k
    if  k==1
        image=get(handles.pushbutton4,'UserData');
    end
    if  k==2
        image=get(handles.pushbutton12,'UserData');
    end
Img=image;%IMPORTANTE: Siempre cargar imagen a variable
resultado=contagb_max(Img);
resultado1=['Basofilos =  ',num2str(resultado(1))];
resultado2=['Eusinofilos =  ',num2str(resultado(2))];
resultado3=['Linfocitos  =  ',num2str(resultado(3))];
resultado4=['Monocitos  =  ',num2str(resultado(4))];
resultado5=['Neutrofilos  =  ',num2str(resultado(5))];
resultado6=[' El total de glóbulos blancos =  ',num2str(resultado(6))];
final={'==============================================';...
       'CONTEO DIFERENCIADO DE GLÓBULOS BLANCOS ';...
       '==============================================';...
       resultado1;...
       resultado2;...
       resultado3;...
       resultado4;...
       resultado5;...
      ' ';...
      '==============================================';...
      resultado6;...
      '=============================================='};
set(handles.edit1,'String',final);
% --- Executes on button press in pushbutton6.
function pushbutton6_Callback(hObject, eventdata, handles)
% --- Executes on button press in pushbutton7.
function pushbutton7_Callback(hObject, eventdata, handles)
% --- Executes on button press in pushbutton8.
function pushbutton8_Callback(hObject, eventdata, handles)
close(contador2);
contador
```

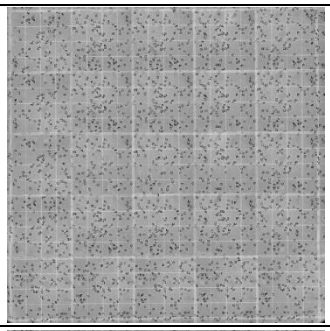
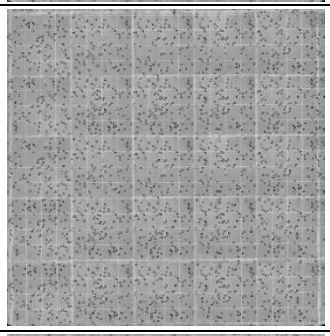
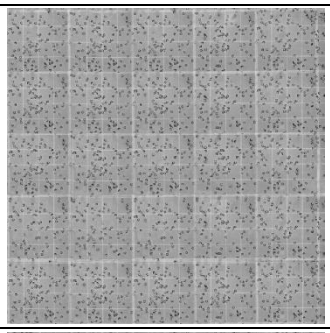
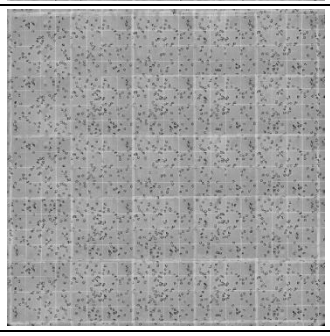
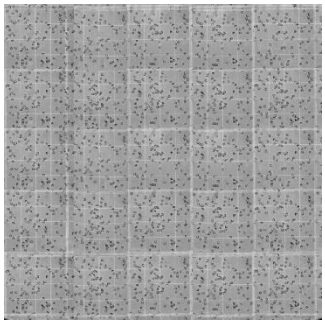
Continúa en la siguiente página…

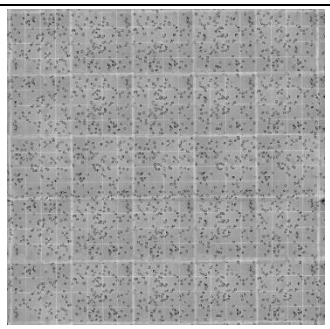
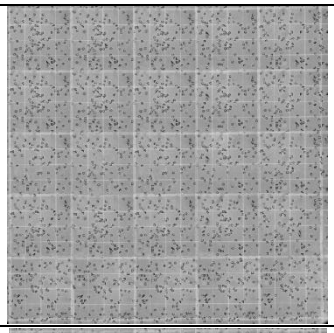
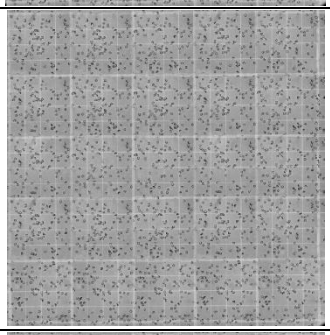
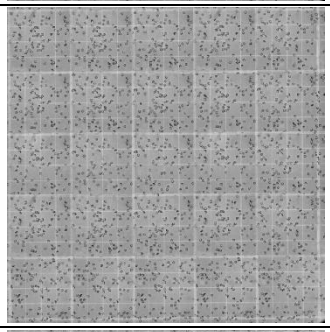
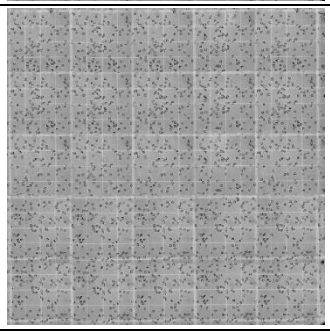
```
function pushbutton2_Callback(hObject, eventdata, handles)
global vid
set(handles.pushbutton4,'Enable','on');
set(handles.Axis1,'visible','on');
axes=(handles.Axis1);
vid=videoinput('winvideo');
vid.ReturnedColorSpace='rgb';
vidRes=get(vid,'VideoResolution');
nBands=get(vid,'NumberOfBands');
himage=image(zeros(vidRes(2),vidRes(1),nBands));
preview(vid,himage);
% --- Executes on button press in pushbutton3.
function pushbutton3_Callback(hObject, eventdata, handles)
set(handles.Axis1,'visible','on');
closepreview;
axes=(handles.Axis1);
fondo=imread('titulo_gb.png');
imshow(fondo);
set(handles.pushbutton4,'Enable','inactive');
% --- Executes on button press in pushbutton4.
function pushbutton4_Callback(hObject, eventdata, handles)
global vid
global k
foto=getsnapshot(vid);
Img=imread('redgrid_2.jpg');
imshow(foto);
set(handles.pushbutton4,'UserData',foto);
k=1;
% --- Executes on button press in pushbutton12.
function pushbutton12_Callback(hObject, eventdata, handles)
global k
 [filename,direc]=uigetfile({'*.jpg; *.bmp; *.png'},'Abrir Archivo');
if isequal(filename,0)clc

else
    archi1=strcat(direc,filename);
    img2=imread(archi1);
    imshow(img2);
    set(handles.pushbutton12,'UserData',img2);
    k=2;
end
% --- Executes on button press in pushbutton14.
function pushbutton14_Callback(hObject, eventdata, handles)
 [filename, pathname] = uiputfile({'*.jpg';'*.bmp'}, 'Save as');
if isequal(filename,0) || isequal(pathname,0)
else
    img3=get(handles.pushbutton4,'UserData');
    archi2=strcat(pathname,filename);
    imwrite(img3,archi2);
end
% --- Executes during object creation, after setting all properties.
function Axis1_CreateFcn(hObject, eventdata, handles)
imag=imread('titulo_gb.png');
axes=(handles.Axis1);
imshow(imag);
set(handles.Axis,'UserData');
% --- Executes on button press in pushbutton15.
function pushbutton15_Callback(hObject, eventdata, handles)
axes(handles.Axis1);
imshow('titulo_gb.png');
set(handles.edit1,'String','')
% --- Executes during object creation, after setting all properties.
function uipanel2_CreateFcn(hObject, eventdata, handles)
global k
m= k;
% --- Executes during object creation, after setting all properties.
function figure1_CreateFcn(hObject, eventdata, handles)
```

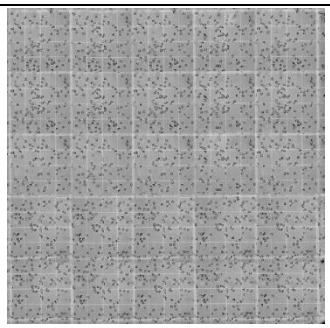
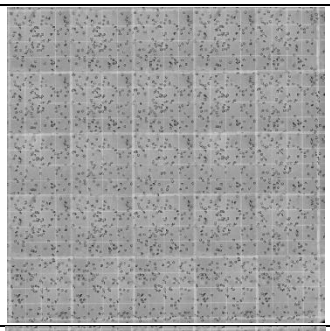
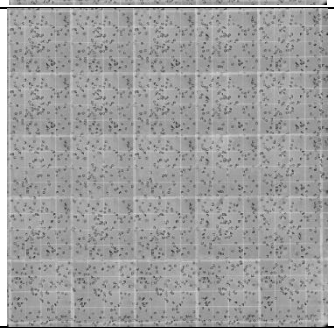
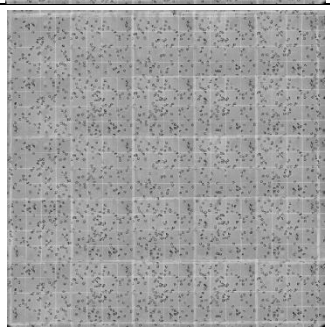
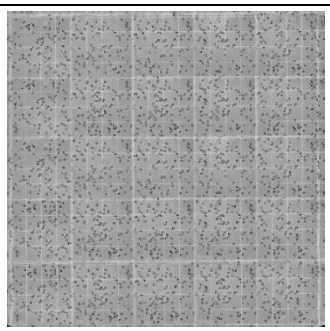
Código de programa 38. **Programa que implementa la interfaz de conteo de GR**
Fuente. Elaboración propia

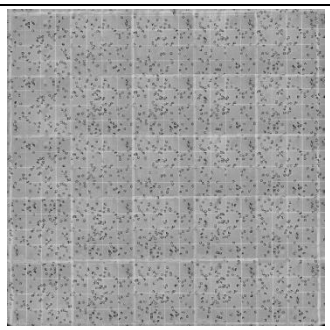
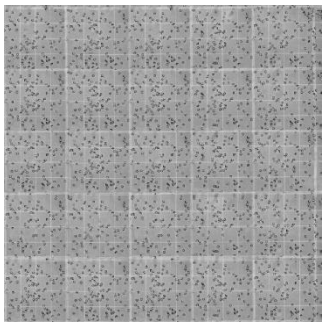
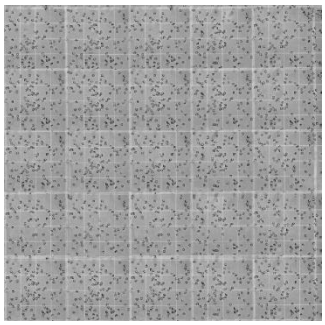
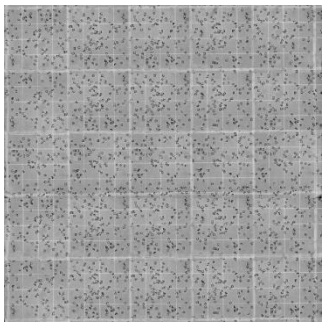
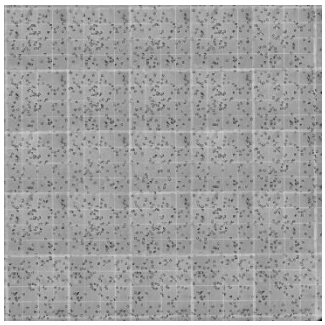
A.1.10. Cuadro de las entradas y salidas para el conteo de GR.

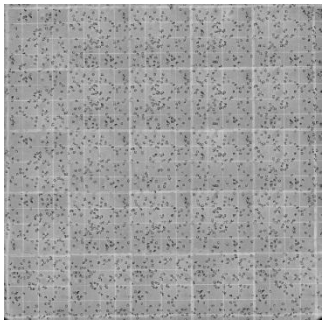
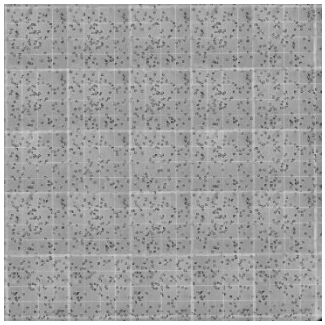
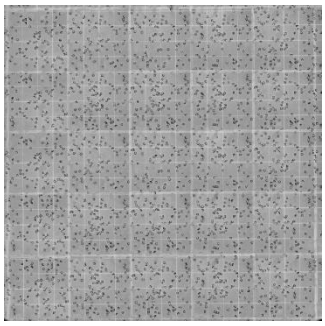
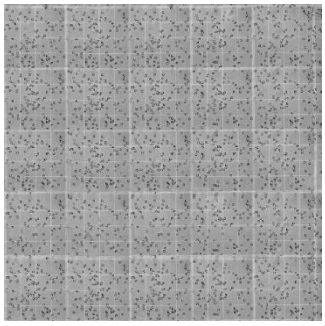
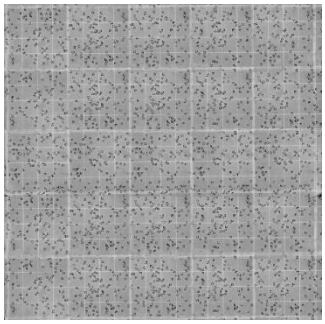
Cuadro 42. **Entradas y salidas del programa que implementa el conteo de GR basado en el algoritmo diseñado**.

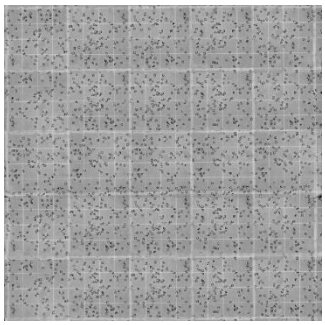
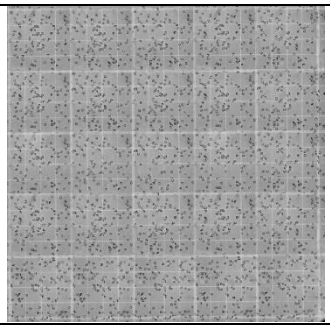
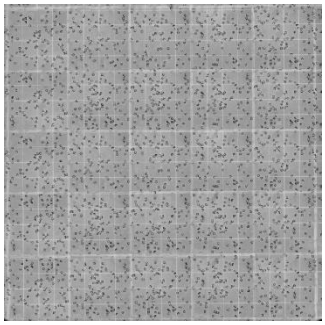
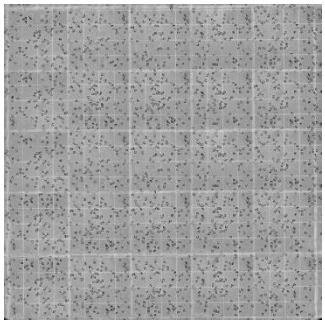
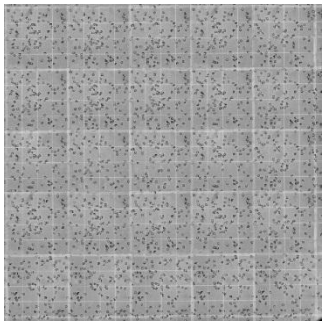
	Entradas	Salidas
1		CONTEO DE GLÓBULOS ROJOS EN LAS 5 CUADRICULAS ========== Cuadricula 1 = 90.000000 Cuadrícula 5 = 105.000000 Cuadricula 13 = 89.000000 Cuadricula 21 = 100.000000 Cuadricula 25 = 100.000000 ========== El total de glóbulos rojos = 484.000000 Factor de dilusión = 1/200 Nº Glóbulos rojos/mm3 = 4840000.000000 ========== Elapsed time is 3.434437 seconds.
2		CONTEO DE GLÓBULOS ROJOS EN LAS 5 CUADRICULAS ========== Cuadricula 1 = 90.000000 Cuadrícula 5 = 105.000000 Cuadricula 13 = 102.000000 Cuadricula 21 = 104.000000 Cuadricula 25 = 97.000000 ========== El total de glóbulos rojos = 498.000000 Factor de dilusión = 1/200 Nº Glóbulos rojos/mm3 = 4980000.000000 ========== Elapsed time is 3.322583 seconds.
3		CONTEO DE GLÓBULOS ROJOS EN LAS 5 CUADRICULAS ========== Cuadricula 1 = 90.000000 Cuadrícula 5 = 104.000000 Cuadricula 13 = 100.000000 Cuadricula 21 = 88.000000 Cuadricula 25 = 103.000000 ========== El total de glóbulos rojos = 485.000000 Factor de dilusión = 1/200 Nº Glóbulos rojos/mm3 = 4850000.000000 ========== Elapsed time is 3.273897 seconds.
4		CONTEO DE GLÓBULOS ROJOS EN LAS 5 CUADRICULAS ========== Cuadricula 1 = 100.000000 Cuadrícula 5 = 103.000000 Cuadricula 13 = 96.000000 Cuadricula 21 = 96.000000 Cuadricula 25 = 104.000000 ========== El total de glóbulos rojos = 499.000000 Factor de dilusión = 1/200 Nº Glóbulos rojos/mm3 = 4990000.000000 ========== Elapsed time is 3.233184 seconds.
5		CONTEO DE GLÓBULOS ROJOS EN LAS 5 CUADRICULAS ========== Cuadricula 1 = 90.000000 Cuadrícula 5 = 103.000000 Cuadricula 13 = 103.000000 Cuadricula 21 = 94.000000 Cuadricula 25 = 100.000000 ========== El total de glóbulos rojos = 490.000000 Factor de dilusión = 1/200 Nº Glóbulos rojos/mm3 = 4900000.000000 ========== Elapsed time is 3.54756 seconds.

6		CONTEO DE GLÓBULOS ROJOS EN LAS 5 CUADRICULAS ========== Cuadrícula 1 = 104.000000 Cuadrícula 5 = 90.000000 Cuadrícula 13 = 103.000000 Cuadrícula 21 = 96.000000 Cuadrícula 25 = 97.000000 ========== El total de glóbulos rojos = 490.000000 Factor de dilusión = 1/200 Nº Glóbulos rojos/mm3 = 4900000.000000 ========== Elapsed time is 3.552749 seconds.
7		CONTEO DE GLÓBULOS ROJOS EN LAS 5 CUADRICULAS ========== Cuadrícula 1 = 90.000000 Cuadrícula 5 = 103.000000 Cuadrícula 13 = 101.000000 Cuadrícula 21 = 100.000000 Cuadrícula 25 = 100.000000 ========== El total de glóbulos rojos = 494.000000 Factor de dilusión = 1/200 Nº Glóbulos rojos/mm3 = 4940000.000000 ========== Elapsed time is 3.3444853 seconds.
8		CONTEO DE GLÓBULOS ROJOS EN LAS 5 CUADRICULAS ========== Cuadrícula 1 = 105.000000 Cuadrícula 5 = 96.000000 Cuadrícula 13 = 99.000000 Cuadrícula 21 = 104.000000 Cuadrícula 25 = 97.000000 ========== El total de glóbulos rojos = 501.000000 Factor de dilusión = 1/200 Nº Glóbulos rojos/mm3 = 5010000.000000 ========== Elapsed time is 3.257747 seconds.
9		CONTEO DE GLÓBULOS ROJOS EN LAS 5 CUADRICULAS ========== Cuadrícula 1 = 105.000000 Cuadrícula 5 = 94.000000 Cuadrícula 13 = 96.000000 Cuadrícula 21 = 100.000000 Cuadrícula 25 = 104.000000 ========== El total de glóbulos rojos = 499.000000 Factor de dilusión = 1/200 Nº Glóbulos rojos/mm3 = 4990000.000000 ========== Elapsed time is 3.577438 seconds.
10		CONTEO DE GLÓBULOS ROJOS EN LAS 5 CUADRICULAS ========== Cuadrícula 1 = 103.000000 Cuadrícula 5 = 96.000000 Cuadrícula 13 = 103.000000 Cuadrícula 21 = 100.000000 Cuadrícula 25 = 100.000000 ========== El total de glóbulos rojos = 502.000000 Factor de dilusión = 1/200 Nº Glóbulos rojos/mm3 = 5020000.000000 ========== Elapsed time is 3.301611 seconds.

11		CONTEO DE GLÓBULOS ROJOS EN LAS 5 CUADRICULAS ========== Cuadricula 1 = 104.000000 Cuadrícula 5 = 101.000000 Cuadricula 13 = 88.000000 Cuadricula 21 = 103.000000 Cuadricula 25 = 104.000000 ========== El total de glóbulos rojos = 500.000000 Factor de dilusión = 1/200 Nº Glóbulos rojos/mm3 = 5000000.000000 ========== Elapsed time is 3.305981 seconds.
12		CONTEO DE GLÓBULOS ROJOS EN LAS 5 CUADRICULAS ========== Cuadricula 1 = 95.000000 Cuadrícula 5 = 104.000000 Cuadricula 13 = 89.000000 Cuadricula 21 = 94.000000 Cuadricula 25 = 103.000000 ========== El total de glóbulos rojos = 485.000000 Factor de dilusión = 1/200 Nº Glóbulos rojos/mm3 = 4850000.000000 ========== Elapsed time is 3.270221 seconds.
13		CONTEO DE GLÓBULOS ROJOS EN LAS 5 CUADRICULAS ========== Cuadricula 1 = 100.000000 Cuadrícula 5 = 103.000000 Cuadricula 13 = 96.000000 Cuadricula 21 = 89.000000 Cuadricula 25 = 100.000000 ========== El total de glóbulos rojos = 488.000000 Factor de dilusión = 1/200 Nº Glóbulos rojos/mm3 = 4880000.000000 ========== Elapsed time is 3.275088 seconds.
14		CONTEO DE GLÓBULOS ROJOS EN LAS 5 CUADRICULAS ========== Cuadricula 1 = 90.000000 Cuadrícula 5 = 90.000000 Cuadricula 13 = 103.000000 Cuadricula 21 = 100.000000 Cuadricula 25 = 104.000000 ========== El total de glóbulos rojos = 487.000000 Factor de dilusión = 1/200 Nº Glóbulos rojos/mm3 = 4870000.000000 ========== Elapsed time is 3.209604 seconds.
15		CONTEO DE GLÓBULOS ROJOS EN LAS 5 CUADRICULAS ========== Cuadricula 1 = 100.000000 Cuadrícula 5 = 105.000000 Cuadricula 13 = 96.000000 Cuadricula 21 = 99.000000 Cuadricula 25 = 100.000000 ========== El total de glóbulos rojos = 500.000000 Factor de dilusión = 1/200 Nº Glóbulos rojos/mm3 = 5000000.000000 ========== Elapsed time is 3.273343 seconds.

16		CONTEO DE GLÓBULOS ROJOS EN LAS 5 CUADRICULAS ========== Cuadricula 1 = 90.000000 Cuadrícula 5 = 105.000000 Cuadricula 13 = 89.000000 Cuadricula 21 = 96.000000 Cuadricula 25 = 97.000000 ========== El total de glóbulos rojos = 477.000000 Factor de dilusión = 1/200 Nº Glóbulos rojos/mm3 = 4770000.000000 ========== Elapsed time is 3.243014 seconds.
17		========== CONTEO DE GLÓBULOS ROJOS EN LAS 5 CUADRICULAS ========== Cuadricula 1 = 95.000000 Cuadrícula 5 = 105.000000 Cuadricula 13 = 96.000000 Cuadricula 21 = 94.000000 Cuadricula 25 = 103.000000 ========== El total de glóbulos rojos = 493.000000 Factor de dilusión = 1/200 Nº Glóbulos rojos/mm3 = 4930000.000000 ========== Elapsed time is 3.292664 seconds.
18		========== CONTEO DE GLÓBULOS ROJOS EN LAS 5 CUADRICULAS ========== Cuadricula 1 = 100.000000 Cuadrícula 5 = 104.000000 Cuadricula 13 = 94.000000 Cuadricula 21 = 96.000000 Cuadricula 25 = 100.000000 ========== El total de glóbulos rojos = 494.000000 Factor de dilusión = 1/200 Nº Glóbulos rojos/mm3 = 4940000.000000 ========== Elapsed time is 3.243724 seconds.
19		========== CONTEO DE GLÓBULOS ROJOS EN LAS 5 CUADRICULAS ========== Cuadricula 1 = 103.000000 Cuadrícula 5 = 101.000000 Cuadricula 13 = 99.000000 Cuadricula 21 = 103.000000 Cuadricula 25 = 97.000000 ========== El total de glóbulos rojos = 503.000000 Factor de dilusión = 1/200 Nº Glóbulos rojos/mm3 = 5030000.000000 ========== Elapsed time is 3.288537 seconds.
20		========== CONTEO DE GLÓBULOS ROJOS EN LAS 5 CUADRICULAS ========== Cuadricula 1 = 104.000000 Cuadrícula 5 = 101.000000 Cuadricula 13 = 103.000000 Cuadricula 21 = 96.000000 Cuadricula 25 = 100.000000 ========== El total de glóbulos rojos = 504.000000 Factor de dilusión = 1/200 Nº Glóbulos rojos/mm3 = 5040000.000000 ========== Elapsed time is 4.013912 seconds.

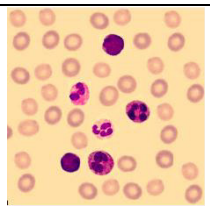
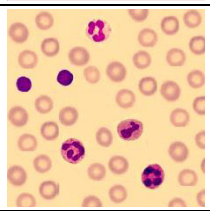
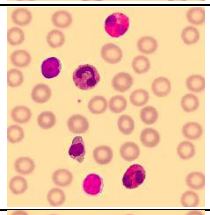
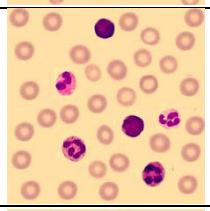
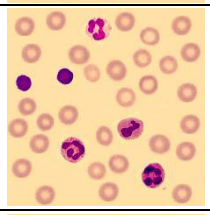
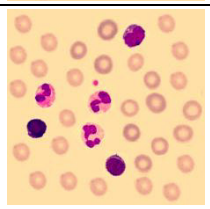
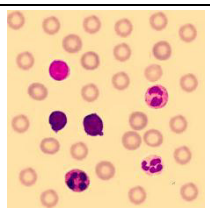
21		========== CONTEO DE GLÓBULOS ROJOS EN LAS 5 CUADRICULAS ========== Cuadricula 1 = 90.000000 Cuadrícula 5 = 101.000000 Cuadricula 13 = 96.000000 Cuadricula 21 = 94.000000 Cuadricula 25 = 104.000000 ========== El total de glóbulos rojos = 485.000000 Factor de dilusión = 1/200 Nº Glóbulos rojos/mm3 = 4850000.000000 ========== Elapsed time is 3.475962 seconds.
22		========== CONTEO DE GLÓBULOS ROJOS EN LAS 5 CUADRICULAS ========== Cuadricula 1 = 95.000000 Cuadrícula 5 = 103.000000 Cuadricula 13 = 103.000000 Cuadricula 21 = 88.000000 Cuadricula 25 = 100.000000 ========== El total de glóbulos rojos = 489.000000 Factor de dilusión = 1/200 Nº Glóbulos rojos/mm3 = 4890000.000000 ========== Elapsed time is 3.797298 seconds.
23		========== CONTEO DE GLÓBULOS ROJOS EN LAS 5 CUADRICULAS ========== Cuadricula 1 = 105.000000 Cuadrícula 5 = 103.000000 Cuadricula 13 = 102.000000 Cuadricula 21 = 94.000000 Cuadricula 25 = 104.000000 ========== El total de glóbulos rojos = 508.000000 Factor de dilusión = 1/200 Nº Glóbulos rojos/mm3 = 5080000.000000 ========== Elapsed time is 3.60171 seconds.
24		========== CONTEO DE GLÓBULOS ROJOS EN LAS 5 CUADRICULAS ========== Cuadricula 1 = 104.000000 Cuadrícula 5 = 101.000000 Cuadricula 13 = 102.000000 Cuadricula 21 = 101.000000 Cuadricula 25 = 97.000000 ========== El total de glóbulos rojos = 505.000000 Factor de dilusión = 1/200 Nº Glóbulos rojos/mm3 = 5050000.000000 ========== Elapsed time is 4.073583 seconds.
25		========== CONTEO DE GLÓBULOS ROJOS EN LAS 5 CUADRICULAS ========== Cuadricula 1 = 103.000000 Cuadrícula 5 = 101.000000 Cuadricula 13 = 100.000000 Cuadricula 21 = 96.000000 Cuadricula 25 = 100.000000 ========== El total de glóbulos rojos = 500.000000 Factor de dilusión = 1/200 Nº Glóbulos rojos/mm3 = 5000000.000000 ========== Elapsed time is 3.616388 seconds.

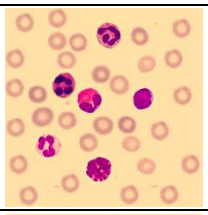
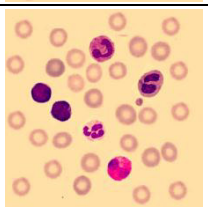
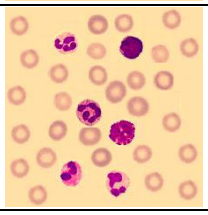
26		========== CONTEO DE GLÓBULOS ROJOS EN LAS 5 CUADRICULAS ========== Cuadrícula 1 = 103.000000 Cuadrícula 5 = 101.000000 Cuadrícula 13 = 100.000000 Cuadrícula 21 = 96.000000 Cuadrícula 25 = 100.000000 ========== El total de glóbulos rojos = 500.000000 Factor de dilusión = 1/200 Nº Glóbulos rojos/mm3 = 5000000.000000 ========== Elapsed time is 3.616388 seconds.
27		========== CONTEO DE GLÓBULOS ROJOS EN LAS 5 CUADRICULAS ========== Cuadrícula 1 = 103.000000 Cuadrícula 5 = 103.000000 Cuadrícula 13 = 100.000000 Cuadrícula 21 = 103.000000 Cuadrícula 25 = 100.000000 ========== El total de glóbulos rojos = 509.000000 Factor de dilusión = 1/200 Nº Glóbulos rojos/mm3 = 5090000.000000 ========== Elapsed time is 3.690140 seconds.
28		========== CONTEO DE GLÓBULOS ROJOS EN LAS 5 CUADRICULAS ========== Cuadrícula 1 = 95.000000 Cuadrícula 5 = 101.000000 Cuadrícula 13 = 89.000000 Cuadrícula 21 = 103.000000 Cuadrícula 25 = 104.000000 ========== El total de glóbulos rojos = 492.000000 Factor de dilusión = 1/200 Nº Glóbulos rojos/mm3 = 4920000.000000 ========== Elapsed time is 3.838090 seconds.
29		========== CONTEO DE GLÓBULOS ROJOS EN LAS 5 CUADRICULAS ========== Cuadrícula 1 = 90.000000 Cuadrícula 5 = 103.000000 Cuadrícula 13 = 101.000000 Cuadrícula 21 = 103.000000 Cuadrícula 25 = 104.000000 ========== El total de glóbulos rojos = 501.000000 Factor de dilusión = 1/200 Nº Glóbulos rojos/mm3 = 5010000.000000 ========== Elapsed time is 3.803180 seconds.
30		========== CONTEO DE GLÓBULOS ROJOS EN LAS 5 CUADRICULAS ========== Cuadrícula 1 = 90.000000 Cuadrícula 5 = 103.000000 Cuadrícula 13 = 88.000000 Cuadrícula 21 = 103.000000 Cuadrícula 25 = 100.000000 ========== El total de glóbulos rojos = 484.000000 Factor de dilusión = 1/200 Nº Glóbulos rojos/mm3 = 4840000.000000 ========== Elapsed time is 3.872180 seconds.

Fuente. Elaboración propia

A.1.11. Cuadro de las entradas y salidas para el conteo de GB, basado en las Redes Neuronales Artificiales.

Cuadro 43. **Entradas y salidas del programa que implementa el conteo de GB basado en el algoritmo Redes Neuronales Artificiales**

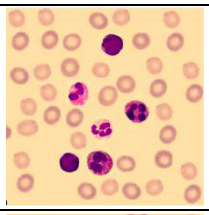
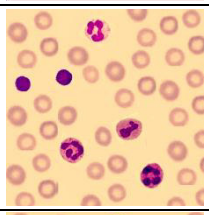
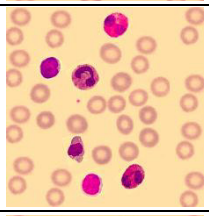
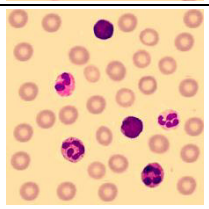
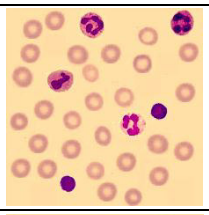
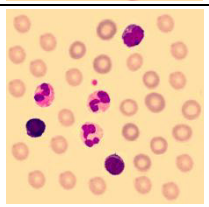
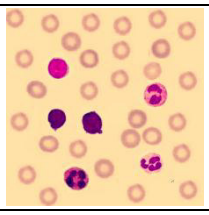
Imagen	Entradas	Salidas
1		========== CONTEO DIFERENCIADO (MÉTODO RNA - 12 PARAMETROS) Basofilos: 0 Eusinofilos: 0 Linfocitos: 2 Monocitos: 1 Neutrofilos: 3 ========== TOTAL: 6 ========== Elapsed time is 19.150350 seconds.
2		========== CONTEO DIFERENCIADO (MÉTODO RNA - 12 PARAMETROS) Basofilos: 0 Eusinofilos: 2 Linfocitos: 2 Monocitos: 2 Neutrofilos: 0 ========== TOTAL: 6 ========== Elapsed time is 19.150350 seconds.
3		========== CONTEO DIFERENCIADO (MÉTODO RNA - 12 PARAMETROS) Basofilos: 0 Eusinofilos: 3 Linfocitos: 0 Monocitos: 2 Neutrofilos: 1 ========== TOTAL: 6 ========== Elapsed time is 19.079365 seconds.
4		========== CONTEO DIFERENCIADO (MÉTODO RNA - 12 PARAMETROS) Basofilos: 0 Eusinofilos: 0 Linfocitos: 2 Monocitos: 1 Neutrofilos: 3 ========== TOTAL: 6 ========== Elapsed time is 19.908236 seconds.
5		========== CONTEO DIFERENCIADO (MÉTODO RNA - 12 PARAMETROS) Basofilos: 0 Eusinofilos: 0 Linfocitos: 2 Monocitos: 1 Neutrofilos: 3 ========== TOTAL: 6 ========== Elapsed time is 19.400236 seconds.
6		========== CONTEO DIFERENCIADO (MÉTODO RNA - 12 PARAMETROS) Basofilos: 0 Eusinofilos: 1 Linfocitos: 3 Monocitos: 0 Neutrofilos: 2 ========== TOTAL: 6 ========== Elapsed time is 19.424193 seconds.
7		========== CONTEO DIFERENCIADO (MÉTODO RNA - 12 PARAMETROS) Basofilos: 0 Eusinofilos: 1 Linfocitos: 2 Monocitos: 1 Neutrofilos: 2 ========== TOTAL: 6 ========== Elapsed time is 19.886321 seconds.

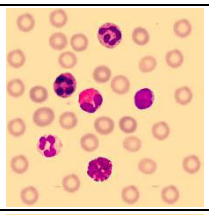
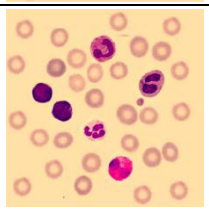
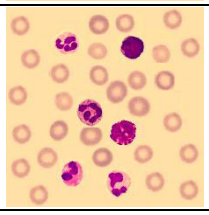
8		========== CONTEO DIFERENCIADO (MÉTODO RNA - 12 PARAMETROS) Basofilos: 1 Eusinofilos: 2 Linfocitos: 1 Monocitos: 1 Neutrofilos: 1 ========== TOTAL: 6 ========== Elapsed time is 19.597478 seconds.
9		========== CONTEO DIFERENCIADO (MÉTODO RNA - 12 PARAMETROS) Basofilos: 0 Eusinofilos: 3 Linfocitos: 1 Monocitos: 1 Neutrofilos: 1 ========== TOTAL: 6 ========== Elapsed time is 19.246125 seconds.
10		========== CONTEO DIFERENCIADO (MÉTODO RNA - 12 PARAMETROS) Basofilos: 0 Eusinofilos: 0 Linfocitos: 2 Monocitos: 2 Neutrofilos: 2 ========== TOTAL: 6 ========== Elapsed time is 19.672397 seconds.

Fuente. Elaboración propia

A.1.12. Cuadro de las entradas y salidas para el conteo de GB, basado en el algoritmo de Máximo y Mínimos.

Cuadro 44. **Entradas y salidas del programa que implementa el conteo de GB basado en el algoritmo y Máximos y Mínimos**

Imagen	Entradas	Salidas
1		========== CONTEO DIFERENCIADO (METODO MAXIMO Y MINIMOS - 12 PARAMETROS Basofilos: 0 Eusinofilos: 2 Linfocitos: 2 Monocitos: 0 Neutrofilos: 2 ========== TOTAL: 6 ========== Elapsed time is 2.434857 seconds.
2		========== CONTEO DIFERENCIADO (METODO MAXIMO Y MINIMOS - 12 PARAMETROS Basofilos: 0 Eusinofilos: 0 Linfocitos: 2 Monocitos: 1 Neutrofilos: 3 ========== TOTAL: 6 ========== Elapsed time is 2.271251 seconds.
3		========== CONTEO DIFERENCIADO (METODO MAXIMO Y MINIMOS - 12 PARAMETROS Basofilos: 1 Eusinofilos: 1 Linfocitos: 1 Monocitos: 1 Neutrofilos: 2 ========== TOTAL: 6 ========== Elapsed time is 2.243531 seconds.
4		========== CONTEO DIFERENCIADO (METODO MAXIMO Y MINIMOS - 12 PARAMETROS Basofilos: 0 Eusinofilos: 0 Linfocitos: 2 Monocitos: 0 Neutrofilos: 4 ========== TOTAL: 6 ========== Elapsed time is 2.0723231 seconds.
5		========== CONTEO DIFERENCIADO (METODO MAXIMO Y MINIMOS - 12 PARAMETROS Basofilos: 0 Eusinofilos: 0 Linfocitos: 2 Monocitos: 1 Neutrofilos: 3 ========== TOTAL: 6 ========== Elapsed time is 2.341351 seconds.
6		========== CONTEO DIFERENCIADO (METODO MAXIMO Y MINIMOS - 12 PARAMETROS Basofilos: 0 Eusinofilos: 0 Linfocitos: 3 Monocitos: 0 Neutrofilos: 3 ========== TOTAL: 6 ========== Elapsed time is 2.753327 seconds.
7		========== CONTEO DIFERENCIADO (METODO MAXIMO Y MINIMOS - 12 PARAMETROS Basofilos: 0 Eusinofilos: 0 Linfocitos: 3 Monocitos: 0 Neutrofilos: 3 ========== TOTAL: 6 ========== Elapsed time is 2.370563 seconds.

8		========== CONTEO DIFERENCIADO (METODO MAXIMO Y MINIMOS - 12 PARAMETROS Basofilos: 1 Eusinofilos: 0 Linfocitos: 1 Monocitos: 1 Neutrofilos: 3 ========== TOTAL: 6 ========== Elapsed time is 2.240742 seconds.
9		========== CONTEO DIFERENCIADO (METODO MAXIMO Y MINIMOS - 12 PARAMETROS Basofilos: 0 Eusinofilos: 1 Linfocitos: 2 Monocitos: 0 Neutrofilos: 3 ========== TOTAL: 6 ========== Elapsed time is 2.272678 seconds.
10		========== CONTEO DIFERENCIADO (METODO MAXIMO Y MINIMOS - 12 PARAMETROS Basofilos: 1 Eusinofilos: 0 Linfocitos: 1 Monocitos: 0 Neutrofilos: 4 ========== TOTAL: 6 ========== Elapsed time is 2.410232 seconds.

Fuente. Elaboración propia

ANEXO 2

En el presente Anexo se presentan los programas utilizados con Matlab para realizar las demostraciones de las hipótesis correspondientes, que permitan aplicar las formulas respectivas en cada caso:

- Programa 1 de demostración de hipótesis especifica 1
- Programa 2 de demostración de hipótesis específica 2
- Programa 3 de demostración de hipótesis especifica 3

El Programa 1 demuestra que el promedio de tiempo de conteo con el método de Redes Neuronales Artificiales (RNA) es menor que con el método manual.

El Programa 2 demuestra que el promedio de tiempo de conteo con el método de conteo de procesamiento digital de señales con el algoritmo diseñado (AD) es menor que con el método de Redes Neuronales Artificiales (RNA).

El Programa 3 demuestra que el promedio de tiempo de conteo con el método de Algoritmo Diseñado (AD) es menor que con el método manual.

A.2.1. Código de programa para demostrar la hipótesis que el tiempo de conteo de GB, basado en el algoritmo de RNA es menor que el realizado con el Método Manual (Programa1).

```
% PROGRAMA: Prueba de Hipótesis basado en T-Student
%           Demuestra el promedio de tiempo conteo con el metodo RNA
%           es menor que el realizado con el Método Manual
% Autor:    Mg.Ing. Rafael Bustamante Alvarez
% ==============================================================================
% Poblaciones dependientes
% PASO 1:
% Ho (hipotesis nula): u1=u2
% H1 (Hipótesis alternativa) u1 < u2;%  El promedio alcanzado por ma es mm.
% menor que
% ma:Método de RNA
% mm:Método manual
ma=[18.73 19.15 19.08 19.91 19.40 19.43 19.87 19.60 19.68 19.23];
mm=[26.41 22.33 25.72 26.82 27.12 22.83 23.33 26.45 22.33 24.47];
n1=size(ma);
n2=size(mm);
n1=n1(2);
n2=n2(2);
n=n1;
d=ma-mm;
sd=std(d);
d=mean(d);
%-------------------------------------------------------------------
%PASO 2:
%Se toma la muestra y calcula tc
%           d
%tc = ------------
%          sd
%       --------
%       sqrt(n)

tc=d*sqrt(n)/sd
%----------------------------------------
%PASO 3:
%Se obtiene la Región crítica
%Si a=0.05 (nivel de significancia o prob. que hipo. nula es verdad)
%Se cumple que P(t(gl)>t(t))=0.05   si n=10 gl=9 t(t)=-1.833 segun tabla
%%tc= t calculado y t(t)=t teorico  grados de libertad= n1+n2-2
%-------------------------------------------
%PASO 4:
% Decisión
%Como el valor de tc=-48.7170 cae en la región de Rechazo de Ho,
%Conclusión: El promedio de tiempo de conteo de ma es menor que el
%el promedio alcanzado por el mm.
%De esta forma se corrobora la hipotesis planteada en la tesis.
```

Código de programa 39. **Programa que implementa la demostración de la hipótesis en el que el tiempo de conteo de GB basado en el algoritmo de RNA es menor que el realizado con el método manual.**
Fuente. Elaboración propia

A.2.2. Código de programa para demostrar la hipótesis que el tiempo de conteo de GB, basado en el algoritmo diseñado basado en el método de Máximos y Mínimos es menor que el realizado con el Método de Redes Neuronales Artificiales (Programa2).

```
% PROGRAMA: Prueba de Hipótesis basado en T-Student
%           Demuestra el promedio de tiempo conteo con el metodo AD
%           es menor que el realizado con el Método RNA
% Autor:    Mg.Ing. Rafael Bustamante Alvarez
% ==============================================================================
% Poblaciones dependientes
% PASO 1:
% Ho (hipotesis nula): u1=u2
% H1 (Hipótesis alternativa) u1 < u2;%  El promedio alcanzado por ma es mm.
% menor que
% ma:Método AD
% mm:Método RNA
ma=[2.43 2.27 2.24 2.07 2.34 2.75 2.37 2.24 2.27 2.41];
mm=[18.73 19.15 19.08 19.91 19.40 19.43 19.87 19.60 19.68 19.23];
n1=size(ma);
n2=size(mm);
n1=n1(2);
n2=n2(2);
n=n1;
d=ma-mm;
sd=std(d);
d=mean(d);
%-------------------------------------------------------------------
%PASO 2:
%Se toma la muestra y calcula tc
%           d
%tc = ------------
%          sd
%       --------
%       sqrt(n)

tc=d*sqrt(n)/sd
%----------------------------------------
%PASO 3:
%Se obtiene la Región crítica
%Si a=0.05 (nivel de significancia o prob. que hipo. nula es verdad)
%Se cumple que P(t(gl)>t(t))=0.05   si n=10 gl=9 t(t)=-1.833 segun tabla
%%tc= t calculado y t(t)=t teorico  grados de libertad= n1+n2-2
%-------------------------------------------
%PASO 4:
%Decisión
%Como el valor de tc=-118.2862 cae en la región de Rechazo de Ho,
%Conclusión: El promedio de tiempo de conteo de ma es menor que el
%el promedio alcanzado por el mm.
%De esta forma se corrobora la hipotesis planteada en la tesis.
```

Código de programa 40. **Programa que implementa la demostración de la hipótesis en el que el tiempo de conteo de GB basado en el Algoritmo diseñado es menor que el realizado con el algoritmo basado en RNA.**
Fuente. Elaboración propia

A.2.3. Código de programa para demostrar la hipótesis que el tiempo de conteo de GB, basado en el algoritmo diseñado basado en el método de Máximos y Mínimos es menor que el realizado con el Método de conteo manual (Programa 3).

```
% PROGRAMA: Prueba de Hipótesis basado en T-Student
%           Demuestra el promedio de tiempo conteo con el metodo AD
%           es menor que el realizado con el Método Manual
% Autor:    Mg.Ing. Rafael Bustamante Alvarez
% ==================================================================
% Poblaciones dependientes
% PASO 1:
% Ho (hipotesis nula): u1=u2
% H1 (Hipótesis alternativa) u1 < u2;%  El promedio alcanzado por ma es mm.
% menor que
% ma:Método AD
% mm:Método Manual
ma=[2.43 2.27 2.24 2.07 2.34 2.75 2.37 2.24 2.27 2.41];
mm=[26.41 22.33 25.72 26.82 27.12 22.83 23.33 26.45 22.33 24.47];
n1=size(ma);
n2=size(mm);
n1=n1(2);
n2=n2(2);
n=n1;
d=ma-mm;
sd=std(d);
d=mean(d);
%-----------------------------------------------------------------
%PASO 2:
%Se toma la muestra y calcula tc
%           d
%tc = ------------
%          sd
%       --------
%       sqrt(n)

tc=d*sqrt(n)/sd
%---------------------------------------
%PASO 3:
%Se obtiene la Región crítica
%Si a=0.05 (nivel de significancia o prob. que hipo. nula es verdad)
%Se cumple que P(t(gl)>t(t))=0.05   si n=10 gl=9 t(t)=-1.833 segun tabla
%%tc= t calculado y t(t)=t teorico  grados de libertad= n1+n2-2
%-----------------------------------------
%PASO 4:
%Decisión
%Como el valor de tc=-35.1770 cae en la región de Rechazo de Ho,
%Conclusión: El promedio de tiempo de conteo de ma es menor que el
%el promedio alcanzado por el mm.
%De esta forma se corrobora la hipotesis planteada en la tesis.
```

Código de programa 41. **Programa que implementa la demostración de la hipótesis en el que el tiempo de conteo de GB basado en el Algoritmo Diseñado basado en el método de Máximos y Mínimos es menor que el realizado con el método manual.**
Fuente. Elaboración propia

ANEXO 3

En esta sección se presenta las tablas utilizadas en las pruebas de hipótesis.

A.3.1. Tabla de U de Mann Whitney.

Tabla 2C.2 Valores críticos $U_{(\alpha;m,n)}$ del estadístico de Mann-Whitney

$\alpha = 0.05$

m \ n	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
21	154	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·
22	162	171	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·
23	170	179	189	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·
24	179	188	198	207	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·
25	187	197	207	217	227	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·
26	195	205	216	226	237	247	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·
27	203	214	225	236	247	257	268	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·
28	212	223	234	245	257	268	279	291	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·
29	220	231	243	255	267	278	290	302	314	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·
30	228	240	252	264	277	289	301	313	325	338	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·
31	236	249	261	274	287	299	312	325	337	350	363	·	·	·	·	·	·	·	·	·
32	244	257	271	284	297	310	323	336	349	362	375	388	·	·	·	·	·	·	·	·
33	253	266	280	293	307	320	334	347	361	374	388	402	415	·	·	·	·	·	·	·
34	261	275	289	303	317	331	345	359	373	387	401	415	429	443	·	·	·	·	·	·
35	269	284	298	312	327	341	356	370	384	399	413	428	442	457	471	·	·	·	·	·
36	277	292	307	322	337	352	366	381	396	411	426	441	456	471	486	501	·	·	·	·
37	286	301	316	331	347	362	377	393	408	423	439	454	470	485	500	516	531	·	·	·
38	294	310	325	341	357	373	388	404	420	436	452	467	483	499	515	531	547	563	·	·
39	302	318	335	351	367	383	399	416	432	448	464	481	497	513	529	546	562	578	595	·
40	311	327	344	360	377	394	410	427	444	460	477	494	511	527	544	561	578	594	611	628

 v.1.00

Figura 140: **Tabla para el cálculo de U(α,n1,n2)**
Fuente: Barrios & García

A.3.2. Tabla de F de Snedecor

DISTRIBUCION F DE SNEDECOR (9)

GRADOS DE LIBERTAD numerador → 9
↓ denominador Probabilidad acumulada

	0.005	0.010	0.025	0.050	0.100	0.750	0.800	0.850	0.900	0.950	0.975	0.980	0.990
1	0.073	0.095	0.139	0.195	0.298	9.263	14.68	26.40	59.86	240.5	963.3	1505	6022
2	0.099	0.125	0.175	0.235	0.333	3.366	4.371	6.043	9.380	19.38	39.38	49.38	99.37
3	0.115	0.143	0.197	0.259	0.356	2.441	2.978	3.794	5.240	8.812	14.47	16.93	27.35
4	0.126	0.156	0.212	0.275	0.371	2.081	2.462	3.015	3.936	5.999	8.905	10.07	14.66
5	0.134	0.165	0.223	0.287	0.383	1.891	2.196	2.627	3.316	4.772	6.681	7.415	10.16
6	0.140	0.172	0.231	0.296	0.392	1.773	2.034	2.395	2.958	4.099	5.523	6.055	7.976
7	0.145	0.178	0.238	0.304	0.399	1.693	1.925	2.241	2.725	3.677	4.823	5.241	6.719
8	0.149	0.183	0.244	0.310	0.405	1.635	1.847	2.132	2.561	3.388	4.357	4.705	5.911
9	0.153	0.187	0.248	0.315	0.410	1.591	1.787	2.050	2.440	3.179	4.026	4.325	5.351

Figura 141. **Tabla para la determinación de la región critica de F de Snedecor y decidir si la población posee varianza desconocida igual o diferente.**
Fuente: ww.jorgegalbiati.cl/nuevo_06/Fsned.pdf

A.3.3. Tabla de Wilcoxon

	Nivel de significación			
Tamaño de la muestra, *n*	Prueba de una cola 0,05	0,01	Prueba de dos colas 0,05	0,01
5	1			
6	2		1	
7	4	0	2	
8	6	2	4	0
9	8	3	6	2
10	11	5	8	3
11	14	7	11	5
12	17	10	14	7
13	21	13	17	10
14	26	16	21	13
15	30	20	25	16
16	36	24	30	19
17	41	28	35	23
18	47	33	40	28
19	54	38	46	32
20	60	43	52	37
21	68	49	59	43
22	75	56	66	49
23	83	62	73	55
24	92	69	81	68
25	101	77	90	68
26	110	85	98	76
27	120	93	107	84
28	130	102	117	92
29	141	111	127	100
30	152	120	137	109

Figura 142: **Tabla para determinar la región crítica mediante la prueba de Wilcoxon**
Fuente: http://materias.unq.edu.ar/pye/Trabajos%20Pr%C3%A1cticos/Tablas%20de%20Estadistica.pdf

A.3.4. Tabla de t-Student

Distribución t de Student con n grados de libertad.
Se tabula $t_{n,\alpha}$, tal que $P(X \geq t_{n,\alpha}) = \alpha$, con $X \in t_n$.

	α					
n	0'250	0'1	0'05	0'025	0'01	0'005
1	1'0000	3'0777	6'3137	12'706	31'821	63'656
2	0'8165	1'8856	2'9200	4'3027	6'9645	9'9250
3	0'7649	1'6377	2'3534	3'1824	4'5407	5'8408
4	0'7407	1'5332	2'1318	2'7765	3'7469	4'6041
5	0'7267	1'4759	2'0150	2'5706	3'3649	4'0321
6	0'7176	1'4398	1'9432	2'4469	3'1427	3'7074
7	0'7111	1'4149	1'8946	2'3646	2'9979	3'4995
8	0'7064	1'3968	1'8595	2'3060	2'8965	3'3554
9	0'7027	1'3830	1'8331	2'2622	2'8214	3'2498
10	0'6998	1'3722	1'8125	2'2281	2'7638	3'1693
11	0'6974	1'3634	1'7959	2'2010	2'7181	3'1058
12	0'6955	1'3562	1'7823	2'1788	2'6810	3'0545
13	0'6938	1'3502	1'7709	2'1604	2'6503	3'0123
14	0'6924	1'3450	1'7613	2'1448	2'6245	2'9768
15	0'6912	1'3406	1'7531	2'1315	2'6025	2'9467
16	0'6901	1'3368	1'7459	2'1199	2'5835	2'9208
17	0'6892	1'3334	1'7396	2'1098	2'5669	2'8982
18	0'6884	1'3304	1'7341	2'1009	2'5524	2'8784
19	0'6876	1'3277	1'7291	2'0930	2'5395	2'8609
20	0'6870	1'3253	1'7247	2'0860	2'5280	2'8453
21	0'6864	1'3232	1'7207	2'0796	2'5176	2'8314
22	0'6858	1'3212	1'7171	2'0739	2'5083	2'8188
23	0'6853	1'3195	1'7139	2'0687	2'4999	2'8073
24	0'6848	1'3178	1'7109	2'0639	2'4922	2'7970
25	0'6844	1'3163	1'7081	2'0595	2'4851	2'7874
26	0'6840	1'3150	1'7056	2'0555	2'4786	2'7787
27	0'6837	1'3137	1'7033	2'0518	2'4727	2'7707
28	0'6834	1'3125	1'7011	2'0484	2'4671	2'7633
29	0'6830	1'3114	1'6991	2'0452	2'4620	2'7564
30	0'6828	1'3104	1'6973	2'0423	2'4573	2'7500

Figura 143. **Tabla de t-student para la determinación de la región critica**
Fuente: http://dm.udc.es/profesores/ricardo/Archivos/tablas_estadisticas.pdf

A.3.5. Prueba de hipótesis con XLSTAT

XLSTAT 2016.02.28451 - Comparación de dos muestras (Wilcoxon, Mann-Whitney, ...) - Comienzo: 13/02/2018 a las 08:32:03 a.m.
Muestra 1: Libro = Tablas_gb_2.xlsx / Hoja = Wil_HG / Rango = Wil_HG!$C$3:$C$32 / 29 filas y 1 columna
Muestra 2: Libro = Tablas_gb_2.xlsx / Hoja = Wil_HG / Rango = Wil_HG!$D$3:$D$32 / 29 filas y 1 columna
Diferencia supuesta (D): 0
Nivel de significación (%): 5
valor-p: Valor-p asintótico
Tratamiento de los empates: Hollander & Wolfe
Corrección de continuidad: Sí

Hipótesis alternativa:
Muestra 1 - Muestra 2 < D
Diferencia supuesta (D): 0
Nivel de significación (%): 5

Estadísticos descriptivos:

Variable	Observaciones	Obs. con datos perdidos	Obs. sin datos perdidos	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típica
AD(seg.)	29	0	29	3.180	4.070	3.477	0.260
CM(seg)	29	0	29	224.400	322.350	288.695	21.220

Prueba de Wilcoxon de los rangos signados / Prueba unilateral a la izquierda:

V	0
Valore esperad	217.500
Varianza (V)	2138.750
valor-p (unilate	<0.0001
alfa	0.05

Se ha utilizado una aproximación para calcular el valor-p.

Interpretación de la prueba:
H0: La distribución de las dos muestras es la misma.
Ha: La distribución de la primera muestra es a la izquierda de la distribución de la segunda muestra.
Puesto que el valor-p computado es menor que el nivel de significación alfa=0.05, se debe rechazar la hipótesis nula H0, y aceptar la hipótesis alternativa Ha.
El riesgo de rechazar la hipótesis nula H0 cuando es verdadera es inferior al 0.01%.

La corrección de continuidad fue aplicada.

Figura 144. ***Prueba de la Hipótesis General respecto al Subacápite 5.2.1 Prueba de Wilcoxon con el programa XLSTAT, donde Muestra 1 es AD (seg) y Muestra 2 es CM (seg). La Ho indica que las medianas son iguales y H1 que la mediana de las Muestra 1 es menor que la Mediana de la Muestra2. Se rechaza Ho.*** **Las Muestras son valores en unidades de tiempo en segundos.**
Fuente: Elaboración Propia

A.3.6. Prueba de hipótesis con XLSTAT

XLSTAT 2016.02.28451 - Pruebas t y z para dos muestras
Muestra 1: Libro = Tablas_gb_2.xlsx / Hoja = Hoja6 / Rangc
Muestra 2: Libro = Tablas_gb_2.xlsx / Hoja = Hoja6 / Rangc
Diferencia supuesta (D): 0
Nivel de significación (%): 5

Hipótesis alternativa: Muestra 1 - Muestra 2 < D
Diferencia supuesta (D): 0
Nivel de significación (%): 5

Estadísticos descriptivos:

Variable	Observaciones	Obs. con datos perdidos	Obs. sin datos perdidos	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típica
Algoritmo de RNA	10	0	10	18.730	19.910	19.408	0.372
Proceso Manual	10	0	10	22.330	27.120	24.781	1.943

Prueba t para dos muestras relacionadas / Prueba unilateral a la izquierda:

Intervalo de confianza para la diferencia entre las medias al 95%:
]-Inf , -4.201 [

Diferencia	-5.373
t (Valor observado)	-8.406
t (Valor crítico)	-1.833
GL	9
valor-p (unilateral)	< 0.0001
alfa	0.05

Interpretación de la prueba:
H0: La diferencia entre las medias es igual a 0.
Ha: La diferencia entre las medias es inferior a 0.
Puesto que el valor-p computado es menor que el nivel de significación alfa=0.05, se debe rechazar la hipótesis nula H0, y aceptar la hipótesis alternativa Ha.
El riesgo de rechazar la hipótesis nula H0 cuando es verdadera es inferior al 0.01%.

Figura 145. **Prueba T de Student para la hipótesis del Acápite 5.2.2 para una población de varianza desconocida y diferente, Usando el programa XLSTAT. Se verifica la hipótesis propuesta. Donde Muestra 1 es Algoritmo RNA y Muestra 2 es Proceso Manual. Las Muestras son valores en unidades de tiempo en segundos.**
Fuente: Elaboración propia

A.3.7. Prueba de hipótesis con XLSTAT

XLSTAT 2016.02.28451 - Pruebas t y z para dos muestras
Muestra 1: Libro = Tablas_gb_2.xlsx / Hoja = Hoja7 / Rang
Muestra 2: Libro = Tablas_gb_2.xlsx / Hoja = Hoja7 / Rang
Diferencia supuesta (D): 0
Nivel de significación (%): 5

Hipótesis alternativa:
Muestra 1 - Muestra 2 < D
Diferencia supuesta (D): 0
Nivel de significación (%): 5

Estadísticos descriptivos:

Variable	Observaciones	con datos per	sin datos per	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típica
Algoritmo Diseñado	10	0	10	2.070	2.750	2.339	0.178
Algoritmo de RNA	10	0	10	18.730	19.910	19.408	0.372

Prueba t para dos muestras relacionadas / Prueba unilateral a la izquierda:

Intervalo de confianza para la diferencia entre las medias al 95%:
]-Inf, -16.804[

Diferencia	-17.069
t (Valor observado)	-118.286
t (Valor crítico)	-1.833
GL	9
valor-p (unilateral)	< 0.0001
alfa	0.05

Interpretación de la prueba:
H0: La diferencia entre las medias es igual a 0.
Ha: La diferencia entre las medias es inferior a 0.
Puesto que el valor-p computado es menor que el nivel de significación alfa=0.05, se debe rechazar la hipótesis nula H0, y aceptar la hipótesis alternativa Ha.
El riesgo de rechazar la hipótesis nula H0 cuando es verdadera es inferior al 0.01%.

Diagrama de dominación:

Figura 146. **Prueba t de Student para la hipótesis del Acápite 5.2.3 para una población de varianza desconocida y diferente, Usando el programa XLSTAT. Se verifica la hipótesis propuesta. Donde Muestra 1 es Algoritmo Diseñado y Muestra 2 es Algoritmo RNA. Las Muestras son valores en unidades de tiempo en segundos.**
Fuente: Elaboración propia

A.3.8. Prueba de hipótesis con XLSTAT

XLSTAT 2016.02.28451 - Pruebas t y z para dos muestra
Muestra 1: Libro = Tablas_gb_2.xlsx / Hoja = Hoja9 / Rar
Muestra 2: Libro = Tablas_gb_2.xlsx / Hoja = Hoja9 / Rar
Diferencia supuesta (D): 0
Nivel de significación (%): 5

Hipótesis alternativa:
Muestra 1 - Muestra 2 < D
Diferencia supuesta (D): 0
Nivel de significación (%): 5

Estadísticos descriptivos:

Variable	Observaciones	con datos per	sin datos per	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típica
Algoritmo Diseñado (PDI)	10	0	10	2.070	2.750	2.339	0.178
Método Manual	10	0	10	22.330	27.120	24.781	1.943

Prueba t para dos muestras relacionadas / Prueba unilateral a la izquierda:

Intervalo de confianza para la diferencia entre las medias al 95%:
]-Inf, -21.273 [

Diferencia	-22.442
t (Valor observado)	-35.177
t (Valor crítico)	-1.833
GL	9
valor-p (unilateral)	< 0.0001
alfa	0.05

Interpretación de la prueba:
H0: La diferencia entre las medias es igual a 0.
Ha: La diferencia entre las medias es inferior a 0.
Puesto que el valor-p computado es menor que el nivel de significación alfa=0.05, se debe rechazar la hipótesis nula H0, y aceptar la hipótesis alternativa Ha.
El riesgo de rechazar la hipótesis nula H0 cuando es verdadera es inferior al 0.01%.

Figura 147. **Prueba T de Student para la hipótesis del Acápite 5.2.4 para una población de varianza desconocida y diferente, Usando el programa XLSTAT. Se verifica la hipótesis propuesta. Donde Muestra 1 es Algoritmo Diseñado y Muestra 2 es Método Manual. Las Muestras son valores en unidades de tiempo en segundos.**
Fuente: Elaboración propia

A.3.9. Prueba de hipótesis con XLSTAT

XLSTAT 2017.02.43840 - Comparación de dos muestras (Wilcoxon, Mann-Whitn m. / Final: 24/04/2017 a las 07:55:17 p.m.
Muestra 1: Libro = Tablas_gb.xlsx / Hoja = Hoja10 / Rango = Hoja10!$R$2:$R$31 /
Muestra 2: Libro = Tablas_gb.xlsx / Hoja = Hoja10 / Rango = Hoja10!$S$2:$S$31 /
Diferencia supuesta (D): 0
Nivel de significación (%): 5
valor-p: Valor-p asintótico
Tratamiento de los empates: Hollander & Wolfe
Corrección de continuidad: Sí
Relanzar:

Hipótesis alternativa:
Muestra 1 - Muestra 2 < D
Diferencia supuesta (D): 0
Nivel de significación (%): 5

Estadísticos descriptivos:

Variable	Observaciones	Obs. con datos perdidos	Obs. sin datos perdidos	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típica
Error (%)	29	0	29	0.962	6.383	2.685	1.584
Mo = 5%	29	0	29	5.000	5.000	5.000	0.000

Prueba de Wilcoxon de los rangos signados / Prueba unilateral a la izquierda:

V	11.000
Valore esperado	217.500
Varianza (V)	2138.375
valor-p (unilateral)	<0.0001
alfa	0.05

Se ha utilizado una aproximación para calcular el valor-p.

Interpretación de la prueba:
H0: La distribución de las dos muestras es la misma.
Ha: La distribución de la primera muestra es a la izquierda de la distribución de la segunda muestra.
Puesto que el valor-p computado es menor que el nivel de significación alfa=0.05, se debe rechazar la hipótesis nula H0, y aceptar la hipótesis alternativa Ha.
El riesgo de rechazar la hipótesis nula H0 cuando es verdadera es inferior al 0.01%.

La corrección de continuidad fue aplicada.

Se han detectado empates en los datos y se han aplicado las correcciones apropiadas.

Figura 148. **Prueba de Wilcoxon para la hipótesis del acápite 5.2.4 usando el programa XLSTAT. Se verifica la hipótesis propuesta, al rechazar la Ho. Las muestras están dadas en porcentaje de error.**
Fuente: Elaboración propia

A.3.10. Costo del software

Cuadro 45. **Determinación del costo del software elaborado**

Conceptos	Símbolo	Fórmula	Valor
Costo de elaboración de software	CDM		S/. 2,500
Electricidad e Internet	EI		S/. 300
Tiempo (meses)	T		12
Costo de desarrollo	CD	T *(CDM+EI)	S/. 33,600
Tiempo de recuperacion de la inversión (meses)	TR		8
Precio de venta mensual	PVM	CD/TR	S/. 4,200
Ventas mensuales proyectadas	VM		2
Precio de venta del software	PV	PVM/VM	S/. 2,100

Fuente. Elaboración propia.

Se considera una cantidad de ventas mínima para las ventas mensuales.

A.3.11. Costo del Método de PDI para el conteo de células

Cuadro 46. **Determinación de la implementación el Método PDI para el conteo de células**

Concepto	Costo
PC (P)	S/. 2,100
Microscopio c/camara(M)	S/. 6,800
Software (S)	S/. 2,100
Total	S/. 11,000

Fuente. Elaboración propia

El costo podría reducirse a solo el costo del software es decir S/.2100, considerando que el usuario cuenta generalmente con un microscopio al que se le adapta una cámara de video de alta resolución o baja resolución y una laptop o PC. Esto, permitiría disminuir a S/.2100 el costo del sistema implementado.